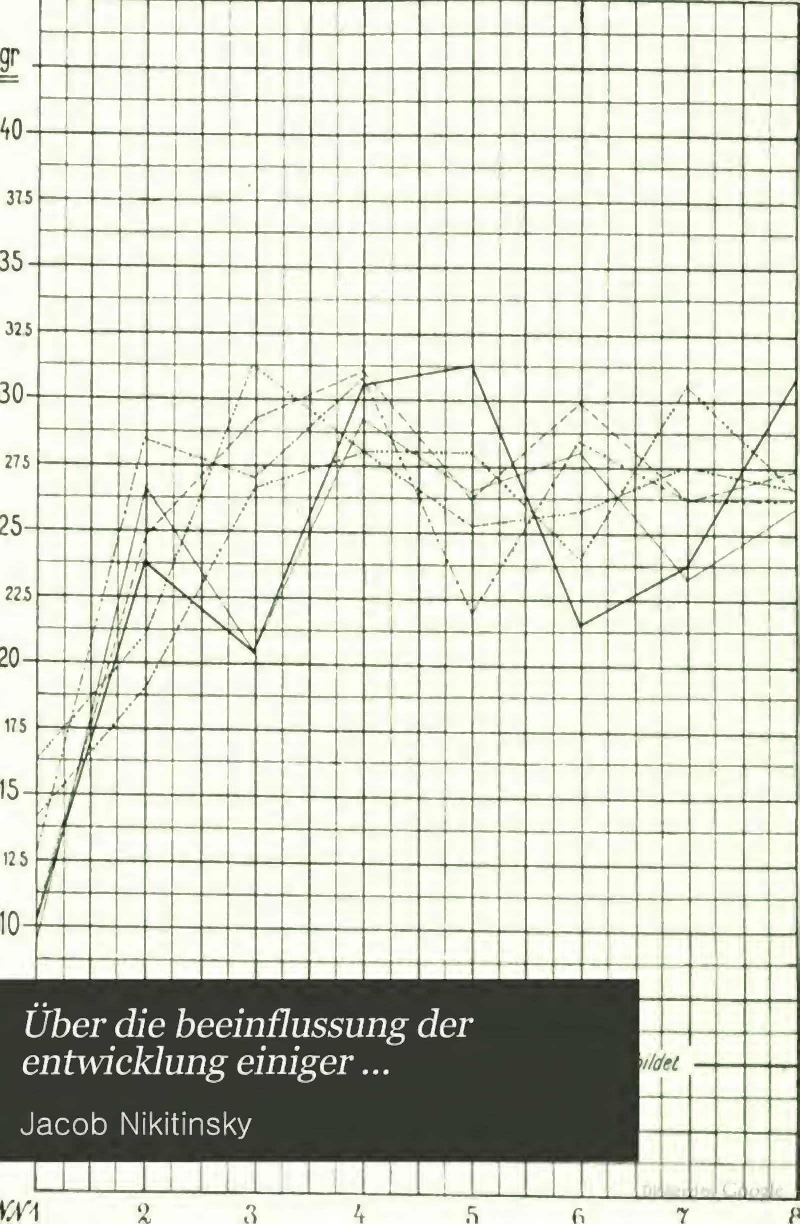


Über die beeinflussung der entwicklung einiger ...

Jacob Nikitinsky

Herrn Prof. Dr Fischer

Ueberreicht vom Ve

Über die Beeinflussung

der

Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte.

Von

Jacob Nikitinsky.

Mit 6 Kurventafeln im Text.

(Separat-Abdruck aus den Jahrbüchern für wissenschaftliche Botanik, Band XL. Heft 1.)

Leipzig
Gebrüder Borntraeger
1904.

Über die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte.

Von

Jacob Nikitinsky.

Mit 6 Kurventafeln.

I. Einleitung.

Obige Frage zerlegt man für ihre Beantwortung am besten in zwei kleinere und versucht erstens die Anwesenheit eines solchen Einflusses von Stoffwechselprodukten bei verschiedenen Ernährungsbedingungen zu konstatieren und zweitens unter all den möglichen Stoffwechselprodukten in jedem einzelnen Falle die ausfindig zu machen, durch deren Wirkung diese Beeinflussung hervorgerufen worden ist. Unsere Kenntnisse über die Stoffwechselprodukte der Schimmelpilze sind bis jetzt sehr gering[1]). Unsere Aufgabe konnten wir darum auch nicht dadurch vereinfachen, daß wir den direkten Einfluß von verschiedenen schon bekannten Stoffwechselprodukten einfach durch deren Zusatz zu dem Substrat genau verfolgten[2]).

Von vornherein könnte man vielleicht eher die Voraussetzung annehmen, dass durch die Stoffwechselprodukte immer eine hemmende Wirkung auf das Pilzwachstum ausgeübt wird[3]). So

1) Vergl. im allgem.: Pfeffer, Pflanzenphys., II. Aufl., I, §§ 78—94; speziell: Wehmer, Botan. Ztg. 1891; Butkewitsch, Jahrb. f. wiss. Botan., XXXVIII, 1902; Puriewitsch, Ber. d. D. botan. Ges., 16, 1898.

2) Obiges wurde nur für die von Wehmer ausführlich untersuchte Oxalsäure ausgeführt.

3) Erinnern wir uns hier z. B. der hemmenden Wirkung, welche, abgesehen von deren Ursache (chemisches Gleichgewicht oder nicht), fast alle Produkte von enzymatischen Reaktionen auf den Reaktionsverlauf aufweisen. Da aber diese Reaktionen eine hervorragende Rolle im Stoffwechsel und damit auch in der Ausbildung der Leibessubstanz spielen, so muß schon durch deren Hemmung die Pilzentwicklung natürlich auch gehemmt werden. Wenn also die Schimmelpilze in der Kulturflüssigkeit irgend welche Produkte enzymatischer

sagt zB. Duclaux[1]) bei dieser Gelegenheit: „Tout ce qu'on peut dire de général à ce sujet, c'est que le milieu que se crée le microbe est pour lui de moins en moins nutritif, de plus en plus antiseptique."

Wir werden aber sehen, daß diese Annahme für unsere Schimmelpilzarten nicht immer die richtige ist. Auch für einige Bakterienarten ist es bekannt (Cholera-, Tuberkel-Bazillus)[2]), daß sie durch ihre eigenen Stoffwechselprodukte in ihrer Entwicklung nicht gehemmt, sondern im Gegenteil stark begünstigt werden. Ich habe mich in dieser Arbeit nur auf die möglichst exakte Lösung der Frage nach der Beeinflussung durch die Produkte der Erzeugung von trockner Pilzsubstanz beschränkt; die Beeinflussung von verschiedenen andersartigen Funktionen[3]) habe ich dabei vollständig unbeachtet gelassen.

Ich erachte es als eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Prof. W. Pfeffer, in dessen Institut die vorliegende Arbeit ausgeführt wurde, an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank auszusprechen für die geneigte Überlassung der reichlichen Hilfsmittel des Leipziger botanischen Instituts, sowie für seine liebenswürdige Bereitwilligkeit, mir stets mit Rat und Tat beizustehen.

Auch Herrn Dr. P. Klemm danke ich herzlich für sein bereitwilliges Entgegenkommen.

II. Methodisches.

An dieser Stelle habe ich nicht viel zu sagen; nur einige notwendige Bemerkungen will ich hier machen. Fast alle Kulturen wurden in Erlenmeyerschen Kolben von verschiedenen Größen angestellt[4]).

Umwandlungen und Zerspaltungen anhäufen, so dürfen wir eine Wachstumshemmung erwarten. Über die Beeinflussung der enzymatischen Reaktionen durch ihre Produkte vergl. z. B. Tammann, Zeitschr. f. physiol. Ch. (Hoppe-Seyler), III, 1889; XVI, 1892; Bredig, Ergebnisse der Physiologie, I. Abt., p. 134. Herausgegeb. v. Ascher & Spiro 1902 (Wiesbaden), hier auch die Literaturangaben.

1) Duclaux, Trait. d. microbiol., I, 236; vergl. auch ebenda III, 519.

2) Buchner, Münch. ärztl. Intelligenzbl., 1885, No. 50. Carnot, C. R. soc. biol. 1898, 765. Literaturangaben bei Wassermann und Kolle, Handbuch d. pathog. Mikroorg. 1902, 1. Lief., p. 123.

3) Wie z. B. der Atmung, Oxalsäurebildung, Schnelligkeit des Wachstums u. a.

4) Wo dies nicht der Fall war, ist es überall in den Tabellen oder bei der Versuchsbesprechung besonders erwähnt.

Als Temperatur wandte ich: für *Aspergillus niger*-Kulturen gewöhnlich 25—26° C., für alle andern Spezies 22—23° C. an. Als Objekte benutzte ich hauptsächlich (besonders in allen etwas genaueren quantitativen Versuchen) *Aspergillus niger van Tieg*, einerseits wegen dessen rascher und guter Entwicklung und der Bequemlichkeit, welche dessen Decken für verschiedene Manipulationen darbieten, anderseits aber (und hauptsächlich) wegen der Leichtigkeit, mit der er sich bestimmen und genau identifizieren läßt; ferner wegen seiner physiologischen Stabilität[1]).

Unter anderen Pilzen wurden von mir *Penicillum glaucum Link.*[2]), *Penicillium griseum Bonord.*, *Mucor stolonifer Ehrenb.*, *Aspergillus flavus Link.*, *Saccharomyces rosaceus* Frankl. und *Saccharomyces cerevisiae* verwendet.

Als Normal-Nährsalzlösung wurde folgende angenommen[3]):

KH_2PO_4 — 0,5 %
$MgSO_4$ — 0,25 „
KCl — 0,05 „ und 2 Tropfen pro

100 ccm von 5 %iger Eisenchloridlösung.

In den Tabellen ist durch „Lösung A“ folgende Lösung bezeichnet:

Zucker — 40 %
NH_4NO_3 — 10 „
KH_2PO_4 — 5 „
$MgSO_4$ — 2,5 „
KCl — 0,5 „

„Lösung B“ ist „Lösung A“ ohne Zucker, und „Lösung C“ ist Lösung B ohne NH_4NO_3. Die Kulturdauer schwankte in verschiedenen Versuchen sehr stark und ist überall angegeben.

Die Kulturen standen bei erwähnten Temperaturen im Wärmezimmer des Instituts unter Lichtabschluß.

Es wurde gewöhnlich nur eine einmalige Sterilisierung von 30 Min. im Kochapparat bei 100° C. vorgenommen. Bei gewöhnlichen

1) Vergl. auch Czapek, Beiträge zur chem. Physiol. und Pathol. Zeitschr. f. Gesamtbiochemie 1902, 542. — Daß das für Versuche so beliebte „*Penicillium glaucum*“ eine Sammlung von physiologischen Varietäten darstellt, halte ich für mehr als wahrscheinlich.

2) Da die Bestimmung der *Penicillium*-Arten sehr große Schwierigkeiten darbietet, so kann ich für die Richtigkeit dieser beiden Spezies nicht bürgen. Hier fühle ich die angenehme Pflicht, Herrn Dr. Gießler für gütige Hilfe in allen Bestimmungsschwierigkeiten meine Dankbarkeit auszusprechen.

3) Vergl. Pfeffer, Pflanzenphys. I, 375.

Kulturflüssigkeiten mit saurer Reaktion genügt dies für Schimmelpilze vollständig; nur bei Versuchen mit Pepton und bei solchen mit neutraler oder alkalischer Reaktion (und bei allen Versuchen mit Bakterien und Hefen) wurde dreimalige fraktionierte Sterilisierung (nach je 24 Stunden 15 Minuten) angewendet.

Da es sich gewöhnlich um eine ganze Reihe von aufeinanderfolgenden Kulturen in einer und derselben Kulturflüssigkeit handelte, so mußte ich nach jeder Kultur die Flüssigkeit vom Mycelium abfiltrieren, zu dem Filtrat frische Nährstoffe hinzufügen und alles von neuem sterilisieren.

Hier drängen sich uns folgende Fragen auf.

Da die Konzentration der Nährstoffe mit der Zahl der Kulturen durch die stetigen Zusätze stark zugenommen haben kann[1]), so müßen wir vor allem den möglichen Einfluß dieser Konzentrationsschwankungen genau präzisieren, um beurteilen zu können, ob bei unseren Versuchen durch die Änderung der Konzentration kein nennenswerter Fehler eingeführt wird, also mit anderen Worten, um die Genauigkeit unserer Methode feststellen.

Die Beantwortung dieser Fragen finden wir in den Versuchen I, II und III.

Versuch I[2]) zeigt uns, welchen Einfluß die allmähliche Erhöhung der Konzentration a l l e r N ä h r s t o f f e auf das Erntegewicht ausüben kann; gleichzeitig lehrt er uns, daß in den Kulturen von *Aspergillus niger* sogar mit 20% (= 10 g in 50 ccm) Zucker, in unseren Bedingungen, die ganze Menge des Zuckers nach 16 Tagen verschwindet. Also, wenn wir jetzt nach der Kultur von *Aspergillus niger* unter ähnlichen Kulturbedingungen wieder das anfängliche Zuckerquantum hinzufügen, so werden wir keine Erhöhung der Zuckerkonzentration bekommen.

Versuch II[3]) zeigt, inwieweit eine Konzentrationserhöhung aller Nährstoffe mit A u s n a h m e d e s Z u c k e r s die Pilzentwicklung zu beeinflussen imstande ist.

Wir sehen, daß d i e s e r E i n f l u ß e i n v e r h ä l t n i s m ä ß i g g e r i n g e r i s t[4]). Die Erhöhung der Nährsalzkonzentration um das 10fache verursacht nur kleine Schwankungen in den Erntegewichten.

1) Wir kennen ja den Verbrauch an Nährstoffen im Laufe der Pilzkultur nicht und können darum nicht genau die verschwundene Menge ersetzen.

2) Siehe in den Tabellen.

3) idem.

4) Vergl. Wehmer, Botan. Ztg. 1891, 424.

Zuckerkonzentration	20%			3%	
Salzkonzentration	Norm.[1])	7 Norm.	10 Norm.	Norm.	10 Norm.
Erntegewicht	1,056 g	1,229 g	0,903 g	0,412 g	0,352 g

Also: 1. Eine mögliche Erhöhung der Konzentration der Nährsalze (inkl. NH_4NO_3) brauchen wir überhaupt nicht besonders zu fürchten;

2. eine Erhöhung der Zuckerkonzentration kann wegen des vollständigen Zuckerverbrauchs bei niederen Zuckerkonzentrationen in den meisten Fällen (unter unseren Bedingungen) nicht auftreten.

Versuch III und IV zeigen, daß, wenn wir in dem Versuch eine Erhöhung der C-Quelle-Konzentration glauben erwarten zu können, wir das nicht unbeachtet lassen dürfen, da ihre Wirkung, besonders bei niederen Konzentrationen, eine sehr starke sein kann. Es wäre vielleicht noch möglich, daß die Sterilisierung bei 100° C. einige Veränderungen in der Kulturflüssigkeit und vielleicht gerade bei den uns interessierenden Stoffen verursachen und einige Eigenschaften der Kulturflüssigkeit ändern und zerstören könnte. Es wurden darum einige Parallelversuche mit heißer, kalter Sterilisierung[2]) (Filtrieren durch Chamberlandsche Filter) und überhaupt ohne jede solche angestellt.

In keinem Fall konnte ich irgend einen Unterschied der Resultate dieser Parallelversuche konstatieren.

Die Aziditätsbestimmung in den Kulturflüssigkeiten fand durch Titrieren mit einer normalen (zuweilen auch dezinormalen) Lösung von NaOH und mit Methylorange, resp. mit Methylviolett statt[3]).

Über das Methodische bei den Versuchen, wo der Zuckergehalt einer analytischen Kontrolle unterworfen war, siehe S. 72—77.

---

1) Normal = KCl — 0,038%, NH_4NO_3 — 0,77%, KH_2PO_4 — 0,38%, $MgSO_4$ — 0,19%.

2) Hier fand nach jeder Kultur eine sterile Herausnahme von Pilzdecken mit sterilisierten Pinzetten im sterilen Raum und darauf ein Zusatz von sterilisierter Lösung A statt. Auf solche Weise wurden z. B. im Vers. V Kolben NN 6 und 7 angestellt.

3) Methylorange weist, wie bekannt, alle freien Säuren nach, zeigt aber saure Salze (bei uns z. B. schon KH_2PO_4) und Kohlensäure nicht an. Methylviolett weist nur starke Säuren (also alle anorganischen Säuren, die in der Kulturflüssigkeit vorkommen können) nach: von organischen Säuren nur die Oxalsäure. Wenn also die Resultate von Paralleltitrierungen mit Methylorange und Methylviolett übereinstimmen und die Abwesenheit der Oxalsäure durch Ausfällen als $CaC_2O_4 \cdot H_2O$ nachgewiesen ist, müssen wir die Gesammtazidität den starken, anorganischen Säuren zuschreiben. Das Titrieren mit

Die Zuckerbestimmung nach Soxhlets titrimetrischer Methode siehe bei König[1]).

Bezüglich der Methodik der Oxalsäurebestimmung verweise ich auf die Wehmersche Arbeit[2]).

Das Trocknen der Pilzdecken wurde meistens auf den getrockneten und gewogenen Filtern, nach dem Abfiltrieren der Kulturflüssigkeit und Auswaschen mit Wasser vorgenommen. Große und dichte Pilzdecken wurden ohne Filter getrocknet. Das Trocknen fand bei 100° während einer Dauer von 24 Stunden statt. Darauf folgte Abkühlung in dem Exsikkator und Wägung bis zu 2,5—3 Dezimalen.

A. Die Beeinflussung der Pilzentwicklung durch die Ausscheidung von Stoffwechselprodukten und andersartigen Veränderungen in der Kulturflüssigkeit bei verschiedenen Ernährungsbedingungen.

Daß die Stadien des Stoffwechsels eines Organismus, die zu der Ausbildung und Ausscheidung aplastischer Endprodukte führen, durch die chemische Natur der Nährstoffe sehr stark und zuweilen auch in ihren wesentlichsten Zügen beeinflußt werden können, ist ohne weiteres klar[3]).

Denn den Hefen zB. ist ihre charakteristische Fähigkeit Alkohol zu bilden genommen, sobald ihnen keine gärfähige Zuckerart zur Verfügung gestellt ist.

Das gleiche gilt auch für alle anderen Gärungen, da sie in den meisten Fällen nur für sehr wenige Stoffe spezifiziert sind.

Weiter bilden die Schimmelpilze z. B. Oxalsäure aus sehr vielen C-Verbindungen, nicht aber aus freien organischen Säuren[4]).

Der Konsum an Kohlenstoff aus N-haltigen organischen Verbindungen (wie zB. aus Pepton, Tyrosin, Leucin, Asparagin usw.)

Methylviolett ist sehr schwer (unscharf), und von genauer Titrierung kann gar keine Rede sein; durch Übung aber ist es möglich, eine für unsere Zwecke ganz genügende Genauigkeitsgrenze zu erreichen. — Über Methylviolett vergl. Detmer, Botan. Ztg., 1884, 79. Salkowsky, Ber. d. d. chem. Ges., Refer. 1902, 343.

1) J. König, Die Untersuch. landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe, 1891, 227.

2) Wehmer, Botan. Ztg. 1891, 272—276—280.

3) Vergl. Pfeffer, Pflanzenphys. I, 442.

4) Wehmer, Botan. Ztg. 1891, 332.

setzt die Bildung von N-haltigen Endprodukten voraus[1]); Zuckerzusatz ruft in diesen Fällen eine sehr starke Veränderung in den Stoffwechselprodukten hervor; ebenso einige andere Veränderungen in den Kulturbedingungen. Durch die zweckmäßige Auswahl der C-Quellen sind wir imstande, den Pilz nach unserem Belieben arbeiten und, je nachdem, saure resp. alkalische Reaktion in der Kulturflüssigkeit walten zu lassen[2]), was schon notwendigerweise auf die spätere Pilzentwicklung einen bestimmten Einfluß haben muß.

In solchen Fällen, wo, wie zB. bei Zerspaltung einiger Glycoside im Stoffwechsel einiger Schimmelpilze bei der Deckung des Kohlenstoffs, ein für den betreffenden Organismus giftiger Stoff abgespalten und nicht sofort weiter verarbeitet oder irgendwie unschädlich gemacht wird, müssen wir selbstverständlich eine hemmende Wirkung beobachten[3]).

Außer dem qualitativen Einfluß der C-Nahrung auf die Ausbildung der Stoffwechselprodukte müssen wir hier auch noch einen Fall, der auch wohl denkbar ist, erörtern, nämlich, wo es sich nur um quantitative Unterschiede in der Ausbildung ein und desselben Stoffwechselproduktes handelt; es kann zB. vorkommen, daß zwei C-Verbindungen bei gleichem C-Konsum aus ihren Molekülen verschiedene Mengen ein und desselben Produktes liefern; wenn nun dieses auf den betreffenden Pilz schädlich wirkt, so werden wir nicht imstande sein, gleiche Gesamtgewichte der Pilzsubstanz auf beiden ernten zu können.

Anderseits aber können wir auch zwei solche C-Quellen voraussetzen, die gleiche Quantitäten (pro Moleküle) von gleichen Stoffwechselprodukten beim C-Konsum liefern, aber eine verschiedene Nährfähigkeit besitzen; in diesem Fall müssen wir erwarten (wenn diese Produkte auch giftig sind) gleiche Gesamtgewichte, aber in ganz verschiedenen Zeiträumen zu erhalten.

---

1) Pfeffer, Pflanzenphys. I, 460. Wehmer, l. c., p. 331. Wehmer, Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch., 9, 1891, p. 172. Butkewitsch, Jahrb. f. wiss. Botan., XXXVIII, 1902. Siehe auch für Bakterien z. B. Duclaux, Traité d Microbiol., IV, 165.

2) Pfeffer, l. c., 490. Wehmer, Ber. d. D. botan. Gesellsch. 1891, 9, 172; Botan. Ztg. 1891, 295. Butkewitsch, l. c., p. 153—165. Vergl. auch Nägeli, Botan. Mitteil. 1881, III, 283. Zöller, Botan. Jahresber. 1874, 213. Stutzer, ebenda 1874, 117. Timpe, Zentralbl. f. B., 1893, XIV, 845. Beyerink, ebenda 1891, IX, 781. Pitruschky, ebenda 1890, VI, 659; 1891, VII, 49.

3) Vergl. Puriewitsch, Ber. d. D. botan. Ges., 15, 1898, 371.

Was nun den Einfluß der N-Quelle anbelangt, so sind hier fast dieselben allgemeinen Betrachtungen wie bei den C-Quellen gültig. Die N-Nahrung kann die verschiedensten Veränderungen im Stoffumsatz hervorrufen. Mit NH_4NO_3, Pepton, Ammonoxalat, Ammonphosphat, Salpeter und einigen anderen N-Verbindungen als N-Quelle bildet *Aspergillus niger* Oxalsäure mehr oder weniger reichlich, nicht aber (unter gleichen übrigen Kulturbedingungen) mit NH_4Cl und $(NH_4)_2SO_4$ [1]). Wenn ferner dem Pilz ein Salz des Ammoniaks bezw. irgend einer organischen N-haltigen Base mit einer Säure als N-Quelle zur Verfügung steht, so wird mit dem N-Konsum aus den Molekülen die Säure disponibel werden; und, je nachdem der Pilz die Fähigkeit besitzt diese Säure im Stoffwechsel weiter zu verarbeiten resp. zu neutralisieren oder nicht, wird sie entweder in der Kulturflüssigkeit angehäuft oder nicht. Im ersten Falle müssen wir selbstverständlich eine von dem Dissoziationsgrad[2]) der betreffenden Säure abhängige, bestimmte Beeinflussung der Pilzentwicklung beobachten.

Umgekehrt wird bei dem N-Konsum aus den Salzen, wo der N der Säure angehört (zB. aus Nitraten), die betreffende Base disponibel; und hier kann auch entweder eine Anhäufung der Base oder eine weitere Verarbeitung[3]) (resp. Neutralisierung) stattfinden.

Außerdem können die C-Quellen und ebenso wohl die N-Quellen auch einen indirekten Einfluß durch ihre Eignung, als C- resp. N-Quelle zu dienen, ausüben. Gute C- resp. N-Quellen gestatten eine bessere Entwicklung mit einer und derselben N- resp. C-Quelle als schlechtere.

Durch die Eignung eines Nährstoffes wird der Konsum von anderen Nährstoffen geregelt, und das kann nicht ohne Bedeutung für den Stoffumsatz, besonders in quantitativer Hinsicht bleiben.

---

1) Wehmer, Botan. Ztg. 1891, 340.

2) Siehe Pfeffer, Pflanzenphys. II, 351.

3) zB. bei dem N-Konsum aus NH_4NO_3, obgleich der Nitrat-N auch verbraucht wird, finden wir wegen eines noch größeren NH_3-N-Verbrauchs keine Anhäufung von Ammoniak, sondern eine solche von freier Salpetersäure (siehe Butkewitsch, l. c., p. 213). Ähnliches kann auch bei dem N-Konsum aus den Nitraten verschiedener organischer Basen stattfinden, wo die disponibel werdende Base weiter verarbeitet sein kann (indem sie als C-Quelle dient).

B. Einfluß der Oxalsäure auf die Pilzentwicklung[1]).

Die Oxalsäure stellt bekanntlich das verbreitetste aplastische Stoffwechselprodukt der Schimmelpilze dar. Die verschiedensten Bedingungen für ihre Ansammlung sind in der ausführlichen Arbeit von Wehmer[2]) erschöpfend untersucht, und es blieb uns nur übrig, die Giftigkeit der Oxalsäure für unsere Organismen etwas eingehender zu präzisieren. Augenscheinlich wirkt die Oxalsäure, wie die meisten anderen Säuren[3]), nur durch ihre H-Ionen schädlich, da die Salze der Oxalsäure, z. B. Kaliumoxalat oder Ammoniumoxalat, bis zu einem sehr großen Gehalt ohne Einfluß auf die Pilzentwicklung bleiben[4]), während die freie Säure schon bei einem geringen Gehalt hemmend wirkt[5]); das heißt, die Hemmung wird nicht durch das Säure-Ion, sondern durch das H-Ion verursacht.

Die starke schädliche Wirkung der Oxalsäure, die der der anorganischen Säuren sehr nahe kommt, wird dadurch ganz verständlich, daß sie gegenüber den übrigen organischen Säuren sehr stark dissoziierbar ist[6]).

In der folgenden Tabelle sind die Resultate meiner Versuche über die Giftigkeit der Oxalsäure zusammengefaßt. Die erste horizontale Zeile gibt die Prozente der kristallinischen, umkristallisierten Oxalsäure, also der $C_2H_2O_4 + 2\ H_2O$ [7]), an; die zweite die daraus berechneten Prozente der $C_2H_2O_4$.

---

1) Ueber den Einfluß der Kohlensäure vergl.: Flügge, Mikroorganismen, 1896, III. Aufl., Bd. I, 445. Pfeffer, Pflanzenphys., II, 333. Duclaux, Traité de microbiol., da, und auch bei Chapin, Flora 1902, 91, Ergänzungsband, die sämtlichen Literaturangaben. Ebenso will ich hier nicht den Einfluß des Alkohols, den viele Schimmelpilze *(Mucoreae)* reichlich produzieren, besprechen (vergl. Hansen, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 1888, II, 160; Brefeld, Landw. Jahrb. 1876, V, 305; Pasteur, Étude sur la bière, 1876, 133; Lesage, Ann. des sc. nat., 1897, VII. Ser., III B, 151; Fitz, Ber. d. D. chem. Ges. 1875, 1876; Gayon, Ann. d. chem. et d. phys., ser. V, t. XIV, 258; Calmette, Ann. d. l'I. Past. 1892, 504.

2) Botan. Ztg. 1891; Ber. d. D. botan. Ges. 1891. Vergl. auch Pfeffer, Jahrb. f. wiss. Botan., 1895, XXVIII, 212. Butkewitsch, ebenda, XXXVIII, 1902.

3) Pfeffer, Pflanzenphys. II, 351.

4) Vergl. z. B. Wehmer, Botan Ztg. 1891, Tab. C., XX 113, 114. In einigen meiner Versuche beobachtete ich keine Entwicklungshemmung bei 5% Kalium- resp. Ammoniumoxalat (für *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*); umgekehrt sogar eine merkliche Beschleunigung gegenüber den Kontrollkulturen.

5) Wehmer, ebenda 326.

6) Vergl. Ostwald, Lehrb. d. Allgem. Chem., II, Teil I, 650.

7) Vergl. Beilstein, Org. Chem. I, 577.

5 % Traubenzucker; 1 % NH_4NO_3; 0,5 % KH_2PO_4; 0,25 % $MgSO_4$; 0,05 % KCl; Fe_2Cl_6-Spuren.

$C_2H_2O_4 \cdot 2\,H_2O = 126$ Oxalsäuregehalt krist.		0 %	0,25 %	0,50 %	0,75 %	1,00 %	1,25 %	1,50 %	1,75 %	2,00 %	2,50 %
$C_2H_2O_4$-Gehalt = 90	Dauer d. Kultur	0 %	0,179	0,357	0,535	0,714	0,892	1,071	1,249	1,428	1,785
Aspergillus niger	10 Tage	++++	+++	++	+		—	—	—	—	—
	3 Mon.	+++++	++++	+++	+++	++	++		—	—	—
Penicillium glaucum	10 Tage	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3 Mon.	+++		—	—	—	—	—	—	—	—
Mucor stolonifer	10 Tage	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3 Mon.	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aspergillus flavus	10 Tage	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3 Mon.	+++	+			—	—	—	—	—	—
Saccharomyc. cerevis.	10 Tage	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3 Mon.	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Saccharomyc. rosaceus	10 Tage	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3 Mon.	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Wir sehen, daß unter allen sechs untersuchten Spezies nur *Aspergillus niger* sich als verhältnismäßig resistent gegen die Einwirkung von Oxalsäure erweist, indem er noch bei 1,5 % $C_2H_2O_4 + 2\,H_2O$ nach drei Monaten ein wenn auch kümmerliches Wachstum erkennen läßt, während fast alle übrigen Organismen (außer *Aspergillus flavus*) schon bei 0,25 % keine Entwicklung mehr zeigen.

Eine schädliche Wirkung kann man aber auch bei *Aspergillus niger* bei viel geringeren Prozenten konstatieren. Zeigt dies doch schon ein Vergleich der Kulturen nach zehn Tagen und nach drei Monaten; außerdem beobachten wir bei einer Konzentration von 0,25 %, trotzdem hier doch eine gute Entwicklung eingetreten war, sogar nach drei Monaten noch keine Sporenbildung, wie auch alle Kulturen bis hinauf zu 1,5 % ganz anormal und weißkörnig sich entwickelt hatten. Bei 1,5 % z. B. wurde nach drei Monaten nur ein ganz dünnes, oberflächliches Häutchen aus ganz kleinen weißen Körnchen (ähnlich den *Saccharomyces mycoderma*-Häutchen) ausgebildet.

Die Tatsache, daß *Asp. niger* viel höhere Konzentrationen von Oxalsäure als andere Organismen zu vertragen imstande ist, bestätigt wiederum den Satz, daß ein Organismus „gegen die eigenen Produkte minder empfindlich“, als gegen diejenigen von anderen Organismen ist[1]).

1) Pfeffer, Pflanzenphys. II, 333.

Aspergillus niger ist bekanntlich[1]) in einem besonders hohen Grade zu der Ansammlung von Oxalsäure befähigt, und demgemäß ist er gegen sie viel resistenter als gegen alle anderen Pilze. Es schien mir noch interessant[2]) zu prüfen, ob die Resistenzfähigkeit eines Pilzes gegen Oxalsäure bei verschiedenen Concentrationen von Nährstoffen immer die gleiche bleibt.

Aus diesen Versuchen[3]) folgt, daß Unterschiede in der Zuckerkonzentration keinen Einfluß auf die Resistenzfähigkeit von *Aspergillus niger* ausüben: bei 3% und 30% Zucker in Parallelversuchen lag die Grenze der Entwicklung nach 25 Tagen immer bei 1,25% $C_2H_2O_4 + 2\,H_2O$.

Da aber die Resistenzfähigkeit der Pilze gegen Oxalsäure (ebenso wie gegen die meisten übrigen Säuren) sich auf eine solche gegen die H-Ionen zurückführen läßt, so muß die für Oxalsäure gefundene Differenz zwischen *Aspergillus niger* und anderen Pilzarten auch für andere Säuren existieren. Tatsächlich werden wir vielmals finden[4]), daß bei *Aspergillus niger* die Ansammlung von H-Ionen in der Kulturflüssigkeit viel weiter gehen kann als bei *Penicillium glaucum* und *P. griseum*. Vergleichen wir nun die Zahlen, welche Wehmer in seinen beiden Arbeiten[5]) für die freie Oxalsäure anführt, mit unseren Resultaten, so ersehen wir, daß unter gewissen Bedingungen (genaueres siehe bei Wehmer) *Aspergillus niger* so große Quantitäten der Oxalsäure anhäufen kann, daß sie nicht nur für andere, nicht so resistente Pilze, sondern sogar auch für *Aspergillus niger* selbst entwicklungssistierend wirken müssen.

C. Einfluß der N-Quelle.

Ammoniaksalze der anorganischen und organischen Säuren.

Von den ersteren wurde von uns Ammonsulfat, Ammonchlorid und Ammonnitrat (und besonders die beiden letzten), von den zweiten weinsaures, citronensaures und oxalsaures Ammon untersucht.

1) Vergl. z. B. Wehmer, Ber. d. D. botan. Ges., 1891, 9, 163.

2) Da ich ja auch oft mit verschiedenen Konzentrationen von Nährstoffen arbeiten mußte.

3) Näher sind diese Versuche nicht angeführt.

4) Siehe z. B. Tab. p. 16 und 17.

5) Wehmer, Botan. Ztg. 1891; Ber. d. D. botan. Ges. 1891.

Der Unterschied zwischen den anorganischen und organischen Salzen ist sehr groß, während alle drei anorganischen, resp. drei organischen Salze miteinander ungefähr eine gleiche Wirkung zu haben scheinen; jedoch können wir aber auch hier einige Unterschiede konstatieren.

In einer Reihe sukzessiver Kulturen rufen im allgemeinen die anorganischen Ammonsalze früher oder später eine Hemmung resp. Verhinderung der Entwicklung, die untersuchten organischen Salze dagegen deren Beförderung hervor.

Die Ammoniaksalze der anorganischen Säuren.

Was die anorganischen Ammonsalze anbelangt, so lehren uns unsere Versuche folgendes:

In den Versuchen VI und VII wurden NH_4Cl, NH_4NO_3 und $(NH_4)_2SO_4$ in Lösungen größerer und kleinerer Konzentrationen von C-Quellen (Zucker und Glyzerin) mit *Aspergillus niger* untersucht; die Hauptresultate sind in den folgenden zwei Tabellen zusammengestellt.

Vers. VII. Zucker 32%; Glyzerin 20%; *Aspergillus niger*. Vol. = 50 ccm (veränderl.), t = 25—26° C.

N-Quelle	1,495% NH_4NO_3				1,234% $(NH_4)_2SO_4$		1% NH_4Cl					
C-Quelle	Glyzerin		Zucker		Glyzerin	Zukker	Glyzerin			Zucker		
1. Kultur Erntegewicht g	0,761	1,927	1,647	1,700	1,844	1,680	1,838	1,855	1,740	1,757	1,447	1,510
2. Kultur Erntegewicht g	1,317	0,000	1,270	0,750	1,095	0,810	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
3. Kultur Erntegewicht g	0,465	—	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	—	—	—	—	—
Summen	2,543	1,927	2,917	2,450	2,938	2,490	1,838	1,855	1,740	1,757	1,447	1,510
Mittlere Werte	2,235		2,683		2,938	2,490	1,811			1,584		
Mittlere Werte	2,459				2,714		1,697					
4. Kultur nach der Neutralisierung. Erntegewicht g	—	1,395	—	—	—	—	1,112	1,425	1,830	1,700	0,915	1,330

Vers. VI. Zucker 4%; Glyzerin 2,5%; *Aspergillus niger*. Vol. = 50 ccm (veränd.); t = 25—26° C.

N-Quelle			1,495% NH_4NO_3		1% NH_4Cl			
C-Quelle			Glyzerin	Zucker	Glyzerin		Zucker	
1. Kultur.	Erntegewicht	g	0,380	0,422	0,395	0,382	0,457	0,466
2. „	„	g	0,345	0,510	0,420	0,405	0,700	0,653
3. „	„	g	0,362	0,416	0,245	0,382	0,000	0,000
4. „	„	g	0,400	0,442	0,082	0,124	—	—
5. „	„	g	0,375	0,392	0,000	0,000	—	—
6. „	Pilzentwicklung		+++	+++	—	—	—	—
Summen			〉1,862	〉2,182	1,142	1,293	1,157	1,119
Mittlere Werte			〉1,862	〉2,182	1,217		1,138	
Mittlere Werte			〉2,022		1,177			

Aus der ersten der angeführten Tabellen ersehen wir, daß wir bei höheren Konzentrationen der C-Quellen imstande sind, bei allen drei Ammonsalzen nur eine sehr kleine Zahl sukzessiver Kulturen zu ernten: nämlich 1—2 und höchstens als Ausnahme 3.

Dabei beobachteten wir, daß das Gesamtgewicht aller dieser Kulturen in allen Fällen verhältnismäßig klein ist: als Maximum finden wir (z. B. für $(NH_4)_2SO_4$ mit Glyzerin) nur 2,938 g.

Vergleichen wir diese Zahlen mit denen, die wir unter anderen Ernährungsbedingungen etwas später[1]) finden werden, und die für 100 ccm der Kulturflüssigkeit mit 30% Zucker[2]) bis auf 34,5 g und wahrscheinlich sogar noch viel höher[3]) steigen können, so sind wir in der Tat berechtigt, die betreffenden Erntezahlen als klein zu bezeichnen.

Es ist also klar, daß unter solchen Bedingungen der Pilz sehr rasch das Substrat in der Weise verändert, daß es für eine weitere Pilzentwicklung ungeeignet wird. Die Kulturflüssigkeiten zeigen (mit Methylorange) stark saure Reaktion, und die letzte Zeile der ersten Tabelle zeigt uns, daß, wenn wir diese Flüssigkeiten

1) Siehe Vers. XXII zB.

2) Mit 20% Zucker bis 32,0 g und mit 25% bis 34,0 g. Siehe Vers. XXII.

3) In diesen Kulturen wurde die Erntegewichtsgrenze, also das Aufhören der Pilzentwicklung nicht erreicht, und darum wissen wir nicht, wie hoch das Gesamtgewicht steigen kann; es muß nur 〉 als 34,5 g sein.

mit NaOH-Lösung (mit Methylorange) neutralisieren, sie ihre für eine Pilzentwicklung schädlichen Eigenschaften verlieren, und wir wieder ganz gute Ernten erhalten.

Bei niederen Konzentrationen der C-Quellen (letzte Tabelle) finden wir etwas andere und nicht so allgemein gültige Resultate, da hier der Schlußeffekt der sukzessiven Kulturen von der Qualität der N-Nahrung noch viel stärker abhängig ist. Wir sehen zB., daß wir mit NH_4Cl als N-Quelle schon nach 2—4 Kulturen ein Substrat bekommen, das für eine weitere Pilzentwicklung ganz untauglich geworden ist; mit NH_4NO_3 dagegen, unter ganz gleichen Bedingungen, sind wir imstande, viel weiter gehen zu können[1]).

Ich muß hier hervorheben, daß in allen Kulturen, die in den beiden letztangeführten Tabellen zusammengestellt sind, das Volum der Kulturflüssigkeit nicht konstant war und mit jeder neuen Kultur durch Verdunstung kleiner und kleiner wurde. Diese Volumverkleinerung ist verhältnismäßig sehr stark[2]) und ruft selbstverständlich eine Erhöhung der Konzentration der schädlich wirkenden Stoffe hervor, wenn auch deren absolute Menge konstant bleibt. Da aber die schädliche Wirkung eines Stoffes hauptsächlich[3]) durch dessen Konzentration, nicht aber durch dessen absolute Quantität bedingt wird, so werden also in diesem Fall die besonders günstigen Bedingungen für den Einfluß der schädlichen Stoffe geschaffen.

Wenn wir jetzt das Volumen durch entsprechende Wasserzusätze nach jeder Kultur konstant halten, so können wir, wie Vers. V, Kolben NN 3, 4 und 5 zeigt, es bis auf eine sehr große Zahl sukzessiver Kulturen bringen; in allen drei Kolben wurden 16 Ernten gesammelt, und konnten wir bis zum Ende keinen hemmenden Einfluß beobachten.

---

1) Der in der Tabelle angeführte Versuch ist nur bis zur 6. Kultur fortgeführt, und noch immer war keine Hemmung bemerkbar; aus dem Vers. V (Kolben N 1) ersehen wir, daß wir unter ähnlichen Bedingungen bis zu neun Kulturen steigen und erst dann eine vollständige Entwicklungshemmung beobachten können.

2) So z. B. fällt das Volum nach drei Kulturen in Vers. VII von 50 ccm auf 17, 25, 19, 18,5, 23,5, 19 ccm, oder in Vers. V Kolben N 1 nach acht Kulturen von 50 ccm bis 17,5 ccm und nach zwölf Kulturen bis 5 ccm.

3) In den Fällen, wo das Gift derartig wirkt, daß es in Verbindung mit irgend welchen Stoffen der Lebenssubstanz tritt, wo also dessen Verbrauch stattfindet, kann auch seine absolute Menge eine kleine Rolle spielen. Vergl. auch Mann, Ann. de l'I. Past., t. VIII, 1894, 785. Pottevin, ebenda, t. VIII, 1894, 796.

Für NH_4Cl dagegen beobachten wir auch unter ungefähr gleichen Bedingungen, wie Vers. XXIII (mit 5% Zucker) zeigt, schon nach wenigen (drei) Kulturen eine vollständige Hemmung der Pilzentwicklung. Aus den Tabellen p. 12, 13 ist auch ersichtlich, daß nicht nur die Zahl der Kulturen, sondern auch das Gesamtpilzgewicht aller sukzessiver Kulturen, welches wir überhaupt auf dem betreffenden Substrat zu erhalten imstande sind, für alle drei Ammonsalze etwas verschieden ist; $(NH_4)_2SO_4$ und NH_4NO_3 gestatten uns nämlich etwas größere Pilzgewichte zu ernten als NH_4Cl[1]).

Durch die Neutralisierung der untauglich gewordenen Kulturflüssigkeit wird, wie gesagt[2]), ihre entwicklungshemmende Wirkung vernichtet. Aus den Tabellen Vers. VI und VII ersehen wir, daß in diesen Kulturflüssigkeiten die Oxalsäure entweder garnicht oder nur spurenweise nachweisbar ist; das Paralleltitrieren mit Methylorange und Methylviolett zeigt keine wesentlichen Unterschiede[3]).

Die Azidität muß also durch irgend eine „starke“ Säure verursacht sein.

Wahrscheinlich kommen wir der Wahrheit nahe, wenn wir sagen, daß diese Azidität in jedem Fall durch entsprechende bei N-Konsum disponibel gewordene anorganische Säure hervorgerufen ist[4]).

Wie erwähnt, sind die Gesamternten für NH_4Cl kleiner als die für $(NH_4)_2SO_4$ und NH_4NO_3. Bei Klark[5]) finden wir, daß für *Aspergillus niger* die Salzsäure merklich schädlicher ist als die Salpetersäure und Schwefelsäure. Je giftiger[6]) also die entsprechende Säure ist, desto niedriger wird die Gesamternte, die wir mit einem Ammonsalz zu sammeln imstande sind.

Wenn wir jetzt aus den Titrierungsangaben den Prozentgehalt der entsprechenden Säure berechnen[7]), so finden wir folgendes:

1) Siehe beide Tabellen p. 12, 13: die Zahlen für die mittleren Werte.

2) Siehe p. 14 und Tab. p. 12.

3) Vers. VI, VII, tabellarische Beilage.

4) Siehe auch Butkewitsch, Jahrb. f. wiss. Botan., XXXVIII, 1902, p. 210 bis 212. Daß sich die freie HNO_3 bei der Pilzentwicklung mit NH_4NO_3 als N-Quelle tatsächlich in der Kulturflüssigkeit ansammelt, siehe ibid. p. 213 (analytische und Titrier-Angaben).

5) Journ. of Physical Chemistry. Vol. 3, No. 5, 1899, Tab. p. 263. Siehe auch Steven, Botanic. Gazette, Vol. XXVI, No. 6. 1898.

6) Also, desto „stärker“, je dissoziierbarer.

7) Siehe Vers. V, VI und VII.

N-Quelle	NH_4Cl		NH_4NO_3		$(NH_4)_2SO_4$	
C-Quelle	Zucker	Glyzerin	Zucker	Glyzerin	Zucker	Glyzerin
Gefunden von:	HCl %	HCl %	HNO_3 %	HNO_3 %	$\frac{1}{2} H_2SO_4$ %	$\frac{1}{2} H_2SO_4$ %
Starke Konzentrationen der C-Quelle	0,511	0,383	1,008	0,626	1,323	1,078
	0,548	0,584	1,260	0,535	—	—
	0,547	0,402	0,819	—	—	—
	0,584	0,438	1,008	—	—	—
	—	—	0,630	—	—	—
Schwache Konzentrationen der C-Quelle	0,383	—	0,945	—	—	—
	0,438	—	0,630	—	—	—
Mittlere Werte	0,502	0,452	1,050	0,580	1,323	1,078
Mittlere Werte	0,477		0,815		1,201	

Bei Klark[1]) finden wir als maximale Grenze für Sporenkeimung bei *Aspergillus niger* rund 0,5 %—0,8 % und 0,6 %. Wir sehen, daß unsere Resultate für *Aspergillus niger*[2]) in den besser untersuchten Fällen (NH_4Cl und NH_4NO_3) mit denen von Klark im allgemeinen gut übereinstimmen[3]); diese Übereinstimmung spricht

1) In den Tabellen bei Klark sind die molekularen Lösungen angegeben; die angeführten Zahlen sind in Prozenten daraus berechnet.

2) Für *Penicillium glaucum* haben wir keine ähnliche Übereinstimmung gefunden; nach Klark ist *Penic. glaucum* viel resistenter gegen anorganische Säuren als *Aspergillus niger*; wir haben in unseren Versuchen gerade umgekehrte Verhältnisse beobachtet, was auf die schon früher (p. 3) erwähnte Unsicherheit und vielleicht physiologische Variabilität der betreffenden Art wird zurückgeführt werden können.

3) Die Übereinstimmung für HNO_3 hat vielleicht einen etwas zweifelhaften Charakter, da hier die Schwankungen zwischen den einzelnen Versuchen verhältnismäßig groß sind, und nur die mittleren Zahlen aus vielen Versuchen die Übereinstimmung zeigen. Aber von solchen Bestimmungen kann man überhaupt keine sehr große Genauigkeit erwarten; nach einigen Kulturen wird gewöhnlich die Kulturflüssigkeit mehr oder weniger gefärbt (gelb bis braun) und dadurch die Titrierung sehr erschwert, oft sogar ganz unmöglich; anderseits müssen wir aber bei den Versuchen mit Pilzen zuweilen überhaupt merkliche Unterschiede als zuverlässig betrachten; da wir die Methodik zur Zeit noch nicht vollständig beherrschen, geben oft zwei, scheinbar streng parallel angestellte Versuche sehr große Unterschiede in ihren Resultaten (vergl. Kunstmann, l. c., p. 15), und sind wir nicht imstande, die Ursache ausfindig zu machen. Darum ist hier die statistische Methode nicht nur nützlich, sondern sehr oft auch notwendig; es ist oft notwendig, um die angestellte Frage möglichst exakt zu beantworten, die mittleren Werte nicht aus zwei, wie es gewöhnlich in anderen Gebieten verlangt wird, sondern aus vielen Parallelversuchen zu ermitteln. Mit NH_4Cl aber finden wir auch bei einzelnen Zahlen ziemlich gute Übereinstimmung.

auch dafür, daß unsere frühere Annahme, daß die schädliche Azidität durch die Anhäufung der freiwerdenden anorganischen Säuren bedingt werde, richtig ist.

Dadurch wird die Tatsache ganz verständlich, daß wir bei höherem Gehalt an C-Quellen viel rascher die Hemmung der Pilzentwicklung beobachten, als bei niederem; denn hierbei wird die Anhäufung der Säure garnicht durch die Zahl der Kulturen, sondern nur durch das ausgebildete Pilzsubstanzgewicht bezw. durch das von ihm für seinen Aufbau absorbierte N-Quantum bedingt.

Von diesem Standpunkt ausgehend, muß also die Zahl der Kulturen bei verschiedenem Gehalt an einer C-Quelle auch verschieden sein, aber das Gesamtgewicht aller Ernten muß für ein bestimmtes Ammonsalz (und für ein bestimmtes Volumen) konstant bleiben.

Wir beobachten jedoch (siehe Tab. p. 12 u. 13), daß das Gesamtgewicht nicht ganz unabhängig von der Konzentration der C-Quelle bleibt, sondern bei niederer Konzentration etwas geringer ist als bei höherer, was ja auch ganz verständlich wird, wenn wir die bekannte Tatsache berücksichtigen, daß die Resistenzfähigkeit eines Schimmelpilzes in den verschiedenen Entwicklungsstadien eine ganz verschiedene ist[1]); für die Sporenkeimungsperiode ist sie gegenüber anorganischen Säuren kleiner als für das entwickelte Mycelium[2]). Bei einem großen Gehalt an der C-Quelle hat der Pilz immer einen Überschuß derselben und kann dann immer noch etwas weiter wachsen, obwohl der Säuregehalt schon die Grenze für die Sporenkeimung überschritten hat. Bei kleineren Quantitäten der C-Quelle dagegen muß der Pilz wegen des Mangels an C-Nahrung seine Entwicklung sehr bald sistieren, und müssen wir also von neuem eine C-Quelle zugeben und frische Sporen darauf aussäen; die letzteren aber werden, wenn die erwähnte Grenze schon erreicht ist, nicht mehr keimen.

Um ungefähr gleiche Pilzgewichte zu erhalten, müssen wir hier eine viel größere Zahl von Sporenaussaaten machen.

Hierdurch wird bei niederem Gehalt an einer C-Quelle eine etwas niedere Aziditätsgrenze — die ungefähr der Sporenkeimungshemmung entspricht — markiert[3]), und dementsprechend sind

1) Pfeffer, Pflanzenphys. II, 1901, 336.

2) Klark, l. c., graphische Tabellen.

3) Tatsächlich sehen wir aus der Tabelle p. 16, daß der Säuregrenzgehalt für höhere Konzentrationen etwas höher ist als für niedere.

wir imstande, in diesem Falle auch nur geringere Pilzernten zu erhalten.

Vers. V (Kolben NN 3, 4 u. 5) zeigt uns, daß wir bei konstant bleibendem Volum der Kulturflüssigkeit mit NH_4NO_3 als N-Quelle eine sehr große Anzahl (mehr als 16) Kulturen ernten können, ohne Sistierung oder sogar Hemmung des Wachstums beobachten zu können.

Aus demselben Versuch (Kolben N 1) sehen wir anderseits, daß bei einem veränderlichen Volum die Konzentration der angehäuften Salpetersäure nur dann schädlich zu wirken anfängt, wenn das Volum der Kulturflüssigkeit bis auf 17 ccm (von 50 ccm) fällt, bei 2,353 g des Gesamtpilzgewichtes; die zweite Grenze (in demselben Kolben N 1) finden wir bei einem Volum von 5 ccm und einem Gesamtgewicht von 0,517 g, und die dritte bei 2,5 ccm Volum und 0,25 g Pilzgewicht.

Nun ist es aber selbstverständlich, daß sowohl die absolute Menge der Salzsäure, die eben schädlich ist, als auch das damit im Zusammenhang stehende Gesamtgewicht umgekehrt proportional dem Volum sein müssen, und wir somit aus den angegebenen Zahlen sehr leicht die Grenze des Pilzgewichts für 50 ccm annähernd berechnen können.

Dann werden wir finden, daß diese Pilzgewichte, berechnet

aus dem ersten Fall gleich 6,7 g
„ „ zweiten „ „ 5,2 g und
„ „ dritten „ „ 5,0 g sind.

Wir sehen nun, daß die tatsächlichen Ernten in Vers. V (Kolben NN 3, 4 u. 5) noch weit hinter diesen Grenzen liegen.

Wenn wir vielleicht interpolieren dürfen, so können wir erwarten, daß diese Grenze mindestens noch nach einer solchen Anzahl von Kulturen erreicht wird, welche wir schon in unserem Versuch vor uns haben, insgesamt also nach 30—40 Kulturen.

Für *Penicillium glaucum* und *P. griseum* finden wir (Vers. XI) viel niedrigere Werte für die Gesamternten und dementsprechend auch eine viel geringere Azidität.

Bei schwacher Konzentration der C-Quelle (5 % Zucker auf 50 ccm) haben wir:

N-Quelle		Gesamternte g		Azidität in % der entsprechend. Säure	
		NH_4Cl	NH_4NO_3	NH_4Cl	NH_4NO_3
Penicillium glaucum	a [1])	0,740	0,935	0,146	0,157
	b	—	1,309	0,109	0,126
Penicillium griseum	a [1])	0,605	0,795	0,365	0,441
	b	?	0,883	0,274	0,441
	c	—	0,788	—	0,444
	d	—	0,657	—	?
	e	—	0,483	—	?

Dabei beobachten wir, daß die Grenzazidität mit beiden Ammonsalzen für *Penicillium griseum* merklich größer ist als für *P. glaucum*. Nach dem Neutralisieren der Kulturflüssigkeit bekommen wir wieder ganz gute Ernten [2]).

Literaturbemerkungen.

Dieser Einfluß der Säure, die durch den N-Konsum in unseren gewöhnlichen Nährlösungen mit Ammonsalzen (NH_4NO_3, $(NH_4)_2SO_4$, NH_4Cl) als N-Quelle frei wird, ist bis jetzt noch nicht genügend berücksichtigt und richtig gedeutet worden; gewöhnlich schreibt man ihn der Oxalsäure zu.

So sagt zB. Kunstmann [3]) auf p. 14 u. 28: „Da die unter den gebotenen Bedingungen gebildete Oxalsäuremenge zu gering war, als daß sie bei Beurteilung der Resultate ins Gewicht gefallen wäre,“ und erklärt trotzdem auf p. 28—29 die Hemmung der Pilzdeckenbildung im Laufe der Zeit durch eine Anhäufung von Oxalsäure, da er bei Zusatz von Dinatriumphosphat eine Steigerung der Deckenbildung gefunden hatte. Augenscheinlich (da die Oxalsäure fehlte) war diese Steigerung nur eine Folge der Neutralisation der disponibel werdenden Salpetersäure, da er ja als N-Quelle NH_4NO_3 gegeben hatte.

1) Die Zahlen von Zeile a siehe im Vers. XI, die übrigen sind einigen, in den Tabellen nicht angeführten Versuchen entnommen.

2) Vers. XI.

3) Über das Verhältnis zwischen Pilzernte und verbrauchter Nahrung. 1895. Leipzig.

Umgekehrt mißt neuerdings Czapek[1]) dieser Erscheinung eine schon zu große Bedeutung bei. Sonderbarerweise hat er nämlich keine Entwicklung des *Aspergillus niger* mit NH_4Cl als N-Quelle[2]) beobachtet, und erklärt diese Beobachtung[3]) folgendermassen: „Man erkennt leicht," sagt er[4]), „daß die Salze (Ammonsalze der anorganischen Säuren) um so besser wirken, je verwendbarer der Säurerest ist. Man kommt so zu der Annahme, daß die Untauglichkeit des Salmiak als Stickstoffquelle nur auf die schädliche Ansammlung von nicht resorbierten Chlorionen zurückzuführen ist, welche schon in den Anfängen des Wachstums die Pilzvegetation hemmen."

Da er aber nun auf NH_4Cl als N-Quelle gar keine Pilzentwicklung beobachtet hat, und da die Grenze der Chlorionenanhäufung in der Kulturflüssigkeit, für *Aspergillus niger*, wie es aus Klarks Angaben und aus meinen Versuchen hervorgeht, garnicht so niedrig ist, um mit einer nicht merkbaren Pilzvegetation erreicht zu werden, so ist diese Erklärung unrichtig.

Ammoniaksalze der organischen Säuren.

Wir haben schon gesehen, daß die untauglich gewordenen Kulturflüssigkeiten durch die Neutralisierung ihre giftigen Eigenschaften verlieren. Es wäre jetzt interessant, auch zu untersuchen, was eintritt, wenn dem Pilze solche Ammonsalze als N-Quelle zur Verfügung stehen, welche bei N-Konsum keine schädliche Säure liefern können.

Als unschädlich kennen[5]) wir zB. die Weinsäure oder Zitronensäure, also dürfen wir ihre Ammonsalze hier anwenden.

---

1) Czapek, Sep.-Abdr. aus Beitr. zur chem. Phys. u. Pathol. Zeitschr. f. die gesamte Biochemie, 1902 I.

2) Mit 1% NH_4Cl; 3% Zucker; Salzen; 28° C.; 22 Tage.

3) Daß diese Beobachtung schon selbst unrichtig ist, geht aus den zahlreichen Literaturangaben ganz deutlich hervor (vergl. zB. Wehmer, Bot. Ztg. 1891, p. 340 u. Tab. C [p. 471]; Butkewitsch, Jahrb. f. wiss. Botan., XXXVIII, 1902, p. 211—212), und auch ich habe in meinen Versuchen immer unter ganz ähnlichen Bedingungen ein gutes Wachstum bei NH_4Cl als N-Quelle beobachten können.

4) Czapek, l. c., p. 581 (Heft 10—12).

5) *Aspergillus niger* wächst sogar bei 30% Weinsäure ganz gut; so hatten wir z. B. folgende Ernten: auf 100 ccm mit 1% NH_4NO_3; 0,5% KH_2PO_4; 0,25% $MgSO_4$; 0,05% KCl, bei

5%	10%	15%	freier Weinsäure
0,368 g	0,647 g	1,045 g.	

Penicillium glaucum aber wuchs in unseren Versuchen schon bei 1% Weinsäure nicht; *Pen. griseum* konnte noch bei 3% sich gut entwickeln, aber nicht mehr bei 10%. Citronensäure ist nach Wehmer (Beitr. z. Kenntnis einheim. Pilze, 1893, 49), für *Penicillium* bis zu sehr großer Konzentration ganz unschädlich.

Da alle Versuche, die in dieser Hinsicht mit *Aspergillus niger* auf weinsaurem Ammon angestellt worden sind, in einem der nächsten Kapitel eine genauere Besprechung finden sollen[1]), so will ich hier nur als Hauptresultat erwähnen, daß unter diesen Ernährungsbedingungen (bei höheren Konzentrationen der C-quelle oder bei niederen, sowohl mit Zucker als auch mit Glyzerin) keine Hemmung der Entwicklung bei den sukzessiven Reihen der Kulturen stattfindet, sondern wir im Gegenteil regelmäßig eine oft sehr starke Beschleunigung der Entwicklung erhalten.

Für *Penicillium glaucum* und *P. griseum* zeigt uns auch Vers. XI ähnliche Resultate; jedoch dürfen wir aus diesen keinen exakten Schluß über die Beschleunigung ziehen, da der Gehalt an Nährstoffen in diesem Versuch keiner Kontrolle unterlag; wohl aber sehen wir, daß, während wir mit NH_4Cl und NH_4NO_3 nur 1—2 Kulturen bekommen, wir auf zitronensaurem Ammon mehr als 4 erhalten haben.

Dabei wurden folgende Gesamtgewichte gefunden:

	Penic. glaucum	*Penic. griseum*
mit NH_4Cl	0,740	0,605
„ NH_4NO_3	0,935	0,795
„ $(NH_4)_2C_6H_6O_7$	$>$ 2,553	$>$ 2,062

Interessant ist es jetzt, diese Zahlen mit denen der ersten Kulturen zusammenzustellen.

	Penic. glaucum	*Penic. griseum*
mit NH_4Cl	0,678	0,605
„ NH_4NO_3	0,455	0,350
„ $(NH_4)_2C_6H_6O_7$	0,688	0,350

Für die ersten Kulturen, in welchen der Einfluß der schädlichen Säure sich noch nicht so deutlich bemerken ließ, finden wir, daß NH_4Cl für *P. glaucum* eine ebenso gute N-Quelle wie $(NH_4)_2C_6H_6O_7$ ist, für *P. griseum* sogar eine viel bessere; umgekehrt zeigt sich $(NH_4)_2C_6H_6O_7$ in beiden Fällen in der ganzen Reihe der Kulturen als die beste N-Quelle.

Kalisalpeter als N-Quelle.

Aus den Versuchen mit Ammonsalzen der anorganischen Säuren geht ganz klar hervor, daß die untersuchten Pilze nicht

1) Auch die Versuche mit Pepton, Asparagin und oxalsaurem Ammon als N-Quellen sind in dem Kapitel über die Beschleunigung angeführt.

befähigt sind, die in der Kulturflüssigkeit angehäuften Säuren auf selbstregulatorischem Wege durch entsprechende Ausbildung irgend welcher Verbindungen basischer Natur zu neutralisieren.

Anderseits ist aus den Vers. XX und XXI ersichtlich, daß dieselben Pilze auch die bei C-Konsum aus weinsaurem Ammon und Kali frei werdenden Basen nicht immer zu neutralisieren imstande sind [1]).

Auf KNO_3 als N-Quelle [2]) dagegen vermögen dies alle drei untersuchten Spezies, *Aspergillus niger* sowohl als *Penicillium glaucum* und *P. griseum*.

Während der sämtlichen 5 Kulturen (Vers. XII) bleibt die Reaktion der Kulturflüssigkeit immer stark sauer (auf Lackmus), es findet also augenscheinlich keine Anhäufung von K-Ionen [3]) statt.

Trotzdem läßt sich aber auch hier eine Wachstumssistierung nach 5 Kulturen konstatieren. Nach einem Zusatz von Marmor haben wir wieder eine gute Pilzentwicklung.

Das Wachstum ist hier also nicht durch eine Anhäufung der freien Base, wie es zu erwarten war, sondern, im Gegenteil, durch eine Säureansammlung sistiert; da es aber selbstverständlich keine anorganische Säure sein kann, und da, nach Wehmer [4]), mit KNO_3 als N-Quelle eine Anhäufung von freier Oxalsäure stattfindet, so liegt die Vermutung nahe, daß auch das Stillstehen der Entwicklung in unserem Versuche durch die Oxalsäure hervorgerufen worden ist. Leider habe ich in diesem Versuche die Bestimmungen der Oxalsäure nicht vorgenommen.

Bei diesem Versuche sehen wir auch, daß die Erntezahlen für die dritte Kultur merklich größer als für die zweite sind, also der Wachstumshemmung wahrscheinlich [5]) eine Wachstumsbeförderung vorangeht.

Hippursäure als C- und N-Quelle.

Für Hippursäure können wir aus chemischen Gründen erwarten, daß sie durch die Pilztätigkeit in Benzoësäure und Glykokol zerfallen wird [6]).

---

1) Wenigstens mit anderen Säuren außer Kohlensäure. Vergl. p. 27—28.

2) Vergl. p. 8.

3) Bezw. OH-Ionen.

4) Botan. Ztg. 1891, p. 393.

5) „Wahrscheinlich“ deshalb, da hier keine Kontrolle des Zuckerverbrauches vorgenommen wurde.

6) Siehe auch Pfeffer, Pflanzenphys. I, p. 442. Ich konnte aber in der Literatur keine experimentellen Angaben über die Produkte der Hippursäurezerspaltung ausfindig machen

Aus dem Versuch XIII ersehen wir, daß auf 1, 2 und 5% Hippursäure[1]) ohne Zucker (Kolben NN 1, 2 u. 3), wo sie also als C-Quelle dem Pilze dargeboten war, die Ernten sehr gering sind, und wir bis zur vierten Kultur keine Hemmung der Pilzentwicklung konstatieren können. Dagegen beobachten wir mit 5 und 30% Zucker (Kolben NN 4 u. 5) bei 3,35%[2]) Hippursäure viel grössere Erntegewichte, und schon nach 2 Kulturen ist die Kulturflüssigkeit für weitere Pilzentwicklung vollständig ungeeignet geworden.

Wenn diese Hemmung der Pilzentwicklung tatsächlich durch die Anhäufung von abgespaltener Benzoësäure hervorgerufen ist, so können wir vielleicht einen solchen Einfluß des Zuckerzusatzes dadurch erklären, daß ohne Zucker die abgespaltene Benzoësäure durch den Pilz weiter verarbeitet und assimiliert wird[3]), und aus diesem Grunde nicht bis zu einer schädlichwirkenden Konzentration angesammelt werden kann; durch Zuckerzusatz aber wird sie vielleicht vor dem Verbrauch geschützt, und findet hier darum im Laufe des Pilzwachstums eine stärkere Benzoësäureansammlung statt. Für eine solche Erklärung spricht noch die Tatsache, daß nach dem Abdampfen der Kulturflüssigkeit und dem Wiederauflösen des Rückstandes in dem früheren Wasservolumen wir von neuem ein ganz gutes Wachstum bekommen haben. Wenn die Hemmung durch die Ansammlung von Oxalsäure hervorgerufen worden wäre, so würde diese Operation keinen Einfluß gehabt haben. Durch chemische Reaktionen gelang es mir jedoch nicht, die Benzoësäure in der Kulturflüssigkeit nachzuweisen.

Chlorammon und weinsaures Ammon bei gleichzeitiger Darbietung.

Anstatt die schädliche Wirkung der Ansammlung von Anionen bzw. H-Ionen bei N-Konsum aus anorganischen Ammonsalzen durch Neutralisierung mit Basen zu beseitigen, können wir das gleiche Resultat auch auf einem etwas anderen Wege erreichen.

Fügen wir zu der Kulturflüssigkeit mit NH_4Cl zB. noch das Ammonsalz einer organischen (schwach dissoziierten) Säure, zB.

1) Bei all diesen Prozent-Gehalten sind die Lösungen gesättigt, und die Kriställchen der Hippursäure bleiben auf dem Boden ungelöst liegen.

2) 3,35% Hippursäure = 261 mg N in 100 ccm = 1% NH_4Cl.

3) Über die Assimilierbarkeit der Benzoësäure vergl. Reinke, Untersuch. aus d. Bot. Lab. zu Göttingen, 1879. Stud. üb. d. Protoplasma, 2. Folge, II, p. 29.

weinsaures Ammon, hinzu, so befinden sich die Kationen-NH_4 im Gleichgewicht mit den Anionen der beiden Säuren (und mit den nicht dissoziierten Teilen).

Sobald aber durch Assimilation in das Pilzprotoplasma ein Teil der NH_4-Ionen aus dem System entfernt wird, so ist damit das Gleichgewicht gestört; wir haben mehr Anionen als Kationen, also haben wir jetzt H-Ionen, und gemäß der Tendenz der Ionen der schwachen Säuren, in den nicht oder weniger dissoziierten Zustand überzugehen, vereinigen sich die H-Ionen mit den Anionen der Weinsäure und bilden das sehr wenig lösliche saure weinsaure Ammon, welches in Kriställchen ausfällt. Demgemäß kann in der Kulturflüssigkeit keine Anhäufung von H-Ionen stattfinden.

Vers. X zeigt uns tatsächlich, daß durch einen solchen Zusatz von weinsaurem Ammon der Pilz vor der Wachstumshemmung in einer Reihe von Kulturen geschützt wird.

Wir haben in diesem Versuch zu den Lösungen mit gleichem Gehalt an NH_4Cl 1 % ($= \frac{266}{2}$ mg N in 50 ccm) verschiedene Quantitäten weinsauren Ammons hinzugefügt, die äquivalent (in bezug auf den N-Gehalt) mit 0,5, 1, 2 und 4 % NH_4Cl waren.

Chlorammon-N	1	1	1	1	1	0
Weinsaures Ammon-N	0	0,5	1	2	4	4
1. Kultur. Erntegewicht g	0,675	1,170	1,020	1,085	1,310	1,800
4. " " g	0,000	0,182	0,380	1,182	1,330	1,420
2. " " g	1,065	2,325	2,525	2,660	1,950	1,660

Wir sehen, daß in den ersten[1]) Kulturen, wo die Anhäufung der Cl- bezw. H-Ionen noch nicht einen so starken Einfluß ausüben kann, die Differenzen in den zugesetzten Mengen des weinsauren Ammons noch keine entsprechenden Differenzen der Pilzgewichte hervorrufen. In der vierten Kultur jedoch ist die schützende Wirkung des weinsauren Ammons ganz klar ausgesprochen. Ohne weinsauren Ammonzusatz haben wir schon nach 2 Kulturen keine Entwicklung mehr, und in der vierten Kultur finden wir desto größere Ernten, je größer der Zusatz von weinsaurem Ammon gewesen ist.

1) und in den zweiten.

In der zweiten Kultur sind, wie die letzte Zeile der Tabelle zeigt, die Erntezahlen viel größer als in der ersten Kultur. Also auch hier haben wir wahrscheinlich eine starke Beschleunigung des Wachstums durch die vorherige Pilzkultur.

D. Einfluſs der C-Quelle.

Traubenzucker, Arabinose und Glyzerin als C-Quelle.

Diese 3 C-Verbindungen scheinen einen nahestehenden, aber nicht ganz identischen Nährwert zu besitzen.

So zB. haben wir nach 16 Tagen mit NH_4NO_3 als N-Quelle auf:

	1 %	2,5 %	5 %	10 %	20 %	30 %	40 %	50 %
Zucker	0,135 g	0,270 g	0,460 g	0,880 g	1,275 g	1,948 g	**2,525 g**	2,495 g
Glyzerin	0,180 g	0,352 g	0,630 g	1,192 g	**1,670 g**	1,150 g	0,700 g	0,088 g
Arabinose	0,112 g	—	0,420 g	—	—	—	—	—

Erntegewicht[1]) (mit *Aspergillus niger*) erhalten.

Bei niederen Konzentrationen scheint das Glyzerin etwas besser als die Dextrose zu wirken, und die Arabinose ist letzterer fast gleich. Bei höheren Konzentrationen dagegen finden wir das umgekehrte Verhältnis. Dies wird dadurch ganz verständlich, daß das Glyzerin einen ca. zweimal so hohen osmotischen Wert als die Dextrose besitzt[2]).

In bezug auf die uns interessierende Frage sind sie insofern gleich, als wir bei allen, mit NH_4NO_3 als N-Quelle bei höheren Konzentrationen eine sehr rasch[3]) auftretende vollständige Entwicklungshemmung zu konstatieren imstande sind, bei niederen dagegen entweder nur eine sehr langsame, oder[4]) gar keine.

Die Ursache der Wachstumshemmung ist bei allen drei die gleiche, nämlich eine starke Erhöhung der Azidität der Kulturflüssigkeit, und zwar unter unseren Versuchsbedingungen nicht durch organische Säuren (Oxalsäure), sondern durch die beim N-Konsum frei werdende Salpetersäure. Dies erklärt uns den Einfluß der Konzentrationsdifferenzen, die ihrerseits die Differenzen in den Pilzerntegewichten und damit im N-Konsum hervorrufen.

---

1) In den ersten Kulturen.

2) Es ist interessant zu bemerken, daß die maximalen Pilzgewichte für die beiden C-Verbindungen (Zucker und Glyzerin) auf die isosmotischen Lösungen (20 % Glyzerin und 40 % Dextrose) fallen. Vergl. Pfeffer, Pflanzenphys. I, 375.

3) In der 2.—3. Kultur.

4) Wenigstens bei unserer Versuchsdauer.

Freie organische Säure als C-Quelle.

Die Versuche wurden mit Chinasäure und Weinsäure angestellt.

Die erste dieser zwei C-Quellen zeigt ein von den übrigen untersuchten C-Quellen etwas abweichendes Verhalten.

Auf Chinasäure (zB. auf 10 %) sehen wir (Vers. XV) mit *Aspergillus niger* noch in der sechsten Kultur ein ebenso gutes Wachstum wie in der zweiten und dritten Kultur. Dabei ist aber das Volum nach 5 Kulturen bis auf 5 ccm verkleinert. Die Gesamternte aller 5 Kulturen ist gleich 1,608 g.

Daraus folgt, daß der Pilz mit Chinasäure als C-Quelle entweder aus dem NH_4NO_3 Molekül Ammoniak-N und Nitrat-N in äquivalenten Verhältnissen absorbiert, so daß überhaupt gar keine Anhäufung von Anionen in der Kulturflüssigkeit stattfindet, oder daß er die Fähigkeit besitzt, die frei werdenden NO_3-Ionen irgendwie zu binden.

Die erste Voraussetzung scheint die wahrscheinlichere zu sein.

Die Weinsäure zeigt uns aber ein ganz ähnliches Verhalten, wie wir es schon zB. bei Zucker gesehen haben.

So haben wir zB. für *Aspergillus niger* auf 100 ccm mit NH_4NO_3 als N-Quelle bei 25—26° C. folgende Resultate erhalten[1]).

Weinsäuregehalt		5 %	10 %	15 %
1. Kultur (16 Tage). Erntegewicht	g	0,368	0,647	1,045
2. „ (30 „). „	g	0,205	0,152	0,147
3. „ (16 „). „	g	0,234	0,148	0,138
4. „ (15 „). „	g	0,146	0,053	0,195
5. „ (20 „). „	g	0,146	0,000	0,000
Summe		1,099	1,000	1,525

Salze organischer Säuren als C-Quelle.

In diesem Fall, namentlich, wenn dem Pilze die Salze der organischen Säuren als einzige Quelle für die Deckung des C-Betriebs vorliegen, ist selbstverständlich das Freiwerden der Basen

1) Dieser Versuch ist in den Tabellen nicht angeführt; nach jeder Kultur fand ein Zusatz von 2,5 g Weinsäure (auch NH_4NO_3 und Salzen, wie gewöhnlich) statt.

und deren Anhäufung[1]) unabwendlich, und wenn nun die betreffende Base[2]) für den Pilz schädlich ist (zB. ein Alkalimetallist), so kann diese schädliche Wirkung nur dadurch beseitigt werden, daß der Pilz regulatorisch eine entsprechende, zur Bindung der Base genügende Menge irgend einer organischen Säure (Oxalsäure) ausbildet.

Wenn aber der Pilz in solche Bedingungen gebracht wird, wo ihm die Fähigkeit, die Säure auszubilden, genommen ist, so ist damit schon eine Bedingung für die schädliche Wirkung der Basen im voraus gegeben.

So finden wir zB. bei Wehmer[3]) ähnliche Verhältnisse. Er hat nämlich gefunden, daß *Aspergillus niger* bei Zimmertemperatur auf weinsaurem Ammon (als einziger C-Quelle, mit NH_4NO_3 als N-Quelle), obschon sehr langsam, so doch verhältnismäßig gut zu wachsen vermag[4]). Bei höheren Temperaturen (34—35° C) ist die Ernte unvergleichlich kleiner[4]); Sporenbildung findet nicht statt, und sehr bald stirbt das Mycelium unter Verfärbung und Zubodensinken ab. Man kann dabei in der Kulturflüssigkeit keine Oxalsäure nachweisen; sie besitzt eine alkalische Reaktion, die augenscheinlich durch das kohlensaure Ammon hervorgerufen ist.

Ähnliche Versuche wurden von mir auch mit *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum* und *P. griseum* auf weinsaurem Ammon und weinsaurem Kali angestellt.

Aus den Vers. XX und XXI ersehen wir tatsächlich, daß alle 3 Pilze und insbesondere *Penicillium glaucum* durch den C-Konsum aus weinsauren Salzen, und wieder besonders aus weinsaurem Kali die Kulturflüssigkeit rasch und so stark alkalisch machen können, daß sie für deren weitere Entwicklung ganz untauglich wird[5]).

---

1) resp. von deren kohlensauren Salzen.

2) resp. deren kohlensaures Salz.

3) Ber. d. Deutsch. botan. Ges., 1891, 9, p. 172, 173. Siehe auch Nägeli, Botan. Mitteil., III, p. 415.

4) Bei Zimmertemperatur aus 1,5 g weinsaur. Ammon wurde 0,030, 0,040, 0,048 g Trockensubstanz, neben 0,525, 0,760, 0,767 g Oxalat (die Zahlen geben die gefundene Menge von $CaC_2O_4 \cdot H_2O$ an) ausgebildet; aus 20 g 0,530 g Trockensubstanz und 15,456 g Oxalat. Bei 34—35° C. aus 10 g weinsaur. Ammon wurde gewöhnlich weniger als 0,002 g Trockensubstanz und gar keine Oxalsäure ausgebildet.

5) Ein Zusammenhang dieser Erscheinung mit der Temperatur ist aus meinen Versuchen nicht zu konstatieren; ich ging aber (für *Aspergillus*) mit der Temperatur nicht höher als 32—33° C., während Wehmer seine Versuche bei 34—35° C. ausführte.

Aus solchen Kulturflüssigkeiten entweicht reichlich Ammoniak resp. kohlensaures Ammon, was sich durch einen befeuchteten Lackmuspapierstreifen sehr leicht nachweisen läßt; in die Kulturkolbenatmosphäre gehängt, wird er entweder langsam oder momentan stark blau.

Nach dem Ansäuren der Kulturflüssigkeit mit KH_2PO_4 finden wir von neuem eine normal-gute Pilzentwicklung. Die Ursache der Wachstumssistierung war also nur die Alkaleszenz der Kulturflüssigkeit.

Interessant ist die große Verschiedenheit, welche beide Spezies von *Penicillium* unter einander zeigen.

P. griseum wächst auf weinsaurem Ammon entweder garnicht oder nur sehr schwach, und dementsprechend ändert sich die Reaktion der Kulturflüssigkeit nicht oder nur sehr schwach.

Bei *P. glaucum* dagegen beobachten wir eine gute Entwicklung und sehr starke und rasche Alkalisierung der Kulturflüssigkeit.

Aspergillus niger steht zwischen diesen beiden Extremen.

Auf weinsaurem Kali geht die Alkalisierung der Kulturflüssigkeit im allgemeinen viel energischer vor sich, und wir bekommen hier auch mit *Aspergillus niger* sehr rasch eine stark alkalische Reaktion. Aber auch hier erweist sich *Penicillium glaucum* zu dieser Alkalisirung ganz besonders befähigt.

Dies geht (außer der viel stärkeren alkalischen Reaction und stärkeren Ammoniakentwicklung) schon daraus ganz deutlich hervor, daß (Vers. XXI 1, 2, 5, 6), wenn wir zu den untauglich gewordenen Flüssigkeiten (auch der ersten Kultur) etwas Zucker geben, wir darauf eine ganz gute Entwicklung in den Kulturen mit *Aspergillus niger* bekommen; dagegen hat in solchen von *Penicillium glaucum* Zuckerzusatz allein noch kein positives Resultat zur Folge; um ein solches zu erreichen, ist es notwendig, die Kulturflüssigkeit noch irgendwie anzusäuern.

Aspergillus niger besitzt also die, obwohl geringe, Fähigkeit, die anhäufenden freien K- resp. NH_4-Ionen (und letztere besonders), wahrscheinlich mittels schwacher Bildung von Oxalsäure, zu binden. Dem *Penicillium glaucum* aber geht diese Fähigkeit ganz ab, oder sie ist noch viel schwächer als bei *Aspergillus niger*.

Verschiedene Glykoside.

Hier muß ich vor allem eine methodische Bemerkung besonders hervorheben; ich hatte nämlich Gelegenheit vielmals zu beobachten,

daß einige Glykoside, wie zB. Amygdalin und Helicin in frisch bereiteten Nährlösungen die Sterilisierung ganz gut aushielten; wenn wir aber die Kulturflüssigkeiten mit diesen Verbindungen nach vorhergegangener Kultur des Pilzes mit frisch zugegebenem Quantum der genannten Glykoside der Sterilisierung unterwarfen, so konnten wir darauf sehr oft (aber nicht immer) eine reichliche Bildung von Spaltungsprodukten konstatieren.

Ferner habe ich noch bemerkt, daß, wenn sich z. B. sofort nach dem Abfiltrieren der ersten Kultur keine Spaltungsprodukte dieser Glykoside nachweisen ließen, wir oft imstande waren, nach einigem (nicht mehr als 6stündigem Stehenlassen des Filtrats bei Zimmertemperatur) deren Auftreten zu konstatieren.

Worauf diese Erscheinungen beruhen, weiß ich nicht[1]). Die Versuche werden aber dadurch sehr erschwert und verwickelt, und ihre Resultate sind nur mit Mißtrauen und mit Vorbehalt aufzunehmen[2]).

Mit Arbutin, Salicin und Helicin, wie das Puriewitsch[3]) konstatiert hat, können wir sehr bald in der Kulturflüssigkeit Spaltungsprodukte nachweisen. Das fand auch ich in meinen Versuchen; aber ich muß hier eine starke Abhängigkeit dieser Erscheinung von den benutzten Pilzarten hervorheben. Verschiedene Arten verhalten sich gegen verschiedene Glykoside auch ganz verschieden.

So zeigt zB. Vers. XVI, daß auf Arbutin das Wachstum von *Penicillium glaucum* und *Mucor stolonifer* schon in der zweiten Kultur vollständig sistiert ist, während wir imstande sind, von *Aspergillus niger* im allgemeinen mehr als 6 Kulturen zu sammeln. Mit *Penicillium* und *Mucor* tritt eine Wachstumssistierung ein, wenn nur 0,043 und 0,055 g Pilzsubstanz ausgebildet sind, mit *Aspergillus* aber steigt das Gesamtgewicht bis auf 0,787 g.

Das gleiche finden wir mit Helicin (Vers. XIX) wieder.

Während *Aspergillus niger* gar kein Salizylaldehyd bildet (richtiger anhäuft), und wir darum schon in der ersten Kultur eine

---

1) Leider hatte ich keine Zeit, diese interessante Erscheinung etwas näher zu untersuchen und zu versuchen, deren Ursache ausfindig zu machen.

2) Aus diesem Grunde muß ich z. B. alle meine Versuche mit Amygdalin ganz unbeachtet lassen, obwohl die Verhältnisse, welche wir bei dem Amygdalin antreffen müßten, aus vorhandenen Literaturangaben sehr interessant sein werden. Vergl. Puriewitsch, Ber. d. Deutsch. botan. Ges., 16, 1898, 371; Laborde, Rech. physiol. sur une moisissure nouvelle, l'Eurotiopsis Gayoni 1896, 53; Pfeffer, Pflanzenphys. I, 495.

3) l. c., p. 369, 370, 371.

verhältnismäßig sehr große Ernte erhalten (0,245—0,225 g), bilden es beide *Penicillium*-Arten, *Aspergillus flavus* und *Mucor stolonifer*; in Kulturen letzterwähnter Pilze finden wir eine reichliche Anhäufung von Salizylaldehyd und dementsprechend ist das Wachstum ganz kümmerlich; die Entwicklung wird sehr bald sistiert, und die Mycelien (öfters unwägbar) sterben ab[1])

Nur mit Salicin finden wir für alle Spezies ungefähr gleiche Verhältnisse; bei allen (*Asp. niger*, *P. glaucum* und *griseum*, und *Mucor stolonifer*), außer *Aspergillus flavus*, läßt sich sehr bald eine starke Anhäufung von Saligenin nachweisen und ist das Wachstum schon nach der ersten Kultur sistiert[2]). *Aspergillus flavus* aber vermag überhaupt garnicht mit Salicin als C-Quelle sich zu entwickeln (Vers. XVIII).

Mit Phloridzin, Quercitrin und Glycyrrhicin konnte ich wenigstens nach 3 Kulturen keine Entwicklungshemmung nachweisen (Vers. XVII).

Pepton als einzige C- und N-Quelle.

Bei dem C- und N-Konsum aus Pepton[3]) wird es, nach Butkewitsch[4]), durch die proteolytischen Enzyme in Ammoniak, Tyrosin und Leucin gespalten. Die quantitativen Verhältnisse zwischen all diesen Produkten werden durch die Fähigkeit des betreffenden Pilzes, Oxalsäure zu produzieren, reguliert[5]).

Bei *Aspergillus niger* überwiegt Ammoniak, bei *Penicillium glaucum* und *Mucor*-Arten Leucin und Tyrosin[6]).

Dabei beobachtete Butkewitsch, daß die Kulturflüssigkeiten nach der Kultur von *Aspergillus niger* eine saure Reaktion be-

1) Das hatte auch schon Puriewitsch gefunden, l. c., 370—371.

2) Nach einem directen Versuch mit Zusatz von Saligenin zu der gewöhnlichen Kulturflüssigkeit (5% Zucker, 1% NH_4NO_3 usw. 50 ccm) ist das Saligenin für *Aspergillus niger* bis 0,25% noch nicht giftig (das Pilzgewicht war 0,212 g), wohl aber bei 0,5 und 1% (hier fand gar keine Entwicklung statt). Für *Penicillium glaucum* und *P. griseum* ist 0,5% giftig (mit 0,25% wurden keine Versuche angestellt).

3) „Witts"-Pepton.

4) Jahrb. f. wiss. Botan., XXXVIII, 1902. Vergl. auch Wehmer, Botan. Ztg., 1891, 295; Marchal, Zentralbl. f. Bakt., 1895, 2. Abt., I, 753.

5) Und damit auch durch alle Kulturbedingungen, welche die Oxalsäurebildung irgendwie beeinflussen.

6) Ibid., p. 153—167.

halten[1]), durch die Kultur von *Penicillium glaucum* und *Mucor*-Arten dagegen eine alkalische Reaktion annehmen[2]).

Meine Versuche beziehen sich auf *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum* und *P. griseum* (siehe Vers. XIV).

Die von Butkewitsch konstatierten Unterschiede zwischen *Aspergillus niger* und *Penicillium* treten in einer Reihe von sukzessiven Kulturen sofort zu Tage.

Für beide *Penicillium*-Arten finden wir, daß die Kulturflüssigkeit schon nach einer Kultur neutral reagiert, aber nach 2 Kulturen bereits alkalisch.

Bei *Aspergillus niger* ist sie noch nach 2 Kulturen schwach sauer, und erst nach 3 Kulturen wird sie alkalisch.

Für *Penicillium griseum* ist die Entwicklung nach 2, für *P. glaucum* nach 3, und für *Aspergillus niger* erst nach 4 Kulturen sistiert.

Die Gesamtgewichte waren dabei:

Pilzart	*Aspergillus niger*	*Penicillium glaucum*	*Penicillium griseum*
mit 2,5% Pepton[3])	0,765	0,568	0,580
„ 5,0% „	1,126	0,640	0,436
„ 10,0% „	1,765	0,729	0,684
Mittlere Werte	0,219	0,646	0,566

Aspergillus niger ist also imstande, auf Pepton allein merklich weiter als *Penicillium glaucum* und *P. griseum* sich zu entwickeln, indem er das abgespaltene Ammoniak mit der von ihm produzierten Oxalsäure neutralisiert.

Nach einem Zusatz von KH_2PO_4 zu den Kulturflüssigkeiten finden wir überall eine verhältnismäßig gute Entwicklung, d. h. die Wachstumssistierung war tatsächlich nur durch die alkalische Reaktion hervorgerufen.

Ein Vergleich der Erntezahlen (siehe Vers. XIV) für die erste und für die zweite Kultur erlaubt uns auch hier eine starke Beschleunigung der Entwicklung in der zweiten Kultur zu konstatieren.

1) Ibid., p. 153, Vers. 1 und 2; p. 156, Vers. 3.

2) Ibid., p. 159, Vers. 4; p. 161, Vers. 5; p. 164, Vers. 6; p. 165, Vers. 7.

3) Der Peptongehalt wurde nicht konstant gehalten (siehe in der Tabelle).

Zwischen der ersten und der zweiten Kultur fand überall ein Zusatz von nur 1 g Pepton statt; die Unterschiede in den Pilzgewichten der ersten Kultur (zwischen 2,5, 5 und 10 % Pepton) im Vergleich mit den Unterschieden zwischen den Ernten von der ersten und der zweiten Kultur, fallen so klein aus, daß wir letztere in keinem Falle auf die Veränderungen im Peptongehalt zurückführen dürfen.

III. Über die bei einigen Nahrungsbedingungen hervortretende Beschleunigung des Wachstums (bei *Aspergillus niger* van Tieg.).

Wir hatten schon bei der Beschreibung früherer Versuche vielmals Gelegenheit gehabt, nebenbei auf diese interessante Tatsache hinzuweisen [1]).

Wenn wir ferner die zahlreichen Versuche, die Raulin in seinen „Etudes chimiques sur la végétation" [2]) anführt, etwas näher betrachten, so lassen sie uns auch dieselbe Erscheinung konstatieren. Er stellte bekanntlich alle seine Versuche derartig an, daß er nicht nur die erste Ernte, sondern auch die zweite, dritte usw. sukzessiv folgende Ernte eines jeden Versuchs sammelte. Der Zweck dieses Verfahrens war, die dem Pilz dargebotenen Nährstoffe möglichst gut auszunutzen und dementsprechend möglichst große Pilzernten zu bekommen.

In sehr vielen Fällen [3]) ersehen wir aus seinen Zahlen, daß die zwei sukzessiv folgenden, in gleichen Zeiträumen erzeugten Pilzernten wenig verschieden oder gleich sind, und sogar die zweite Ernte oftmals größer ist als die erste. Zuweilen ist dieser Unterschied relativ sehr groß; so finden wir zB. solche Verhältnisse [4]):

---

1) Siehe p. 22, 25, 31.

2) Ann. d. Sc. nat. XI, 1869, s. V.

3) Siehe l. c., p. 215 Exp. du 21 mars No. 4, 5, Exp. du 31 mars No. 3; p. 226 Premier exp. No. 1, 2; p. 228 Troisième exp. No. 2, 3, 4; p. 232 Troisième exp. No. 1, 2, 3, 4, 5; p. 234 Cinquième exp. No. 1, 2, 3; p. 239 Deuxième exp. No. 1, 3; p. 243 Cinquième exp. No. 1, 2; p. 245 Troisième exp. No. 3; p. 246 Cinquième exp. No. 3; p. 248 Septième exp. No. 1, 2, 3, 4; p. 249 Huitième exp. No. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7; p. 251 Neuvième exp. No. 2, dixième exp. No. 1, 2, 3, 4, 5; p. 255 Premier exp. No. 1, 2, 3; p. 262 Exp. 20 octobre No. 2; p. 269 Exp. 23 juin No. 2; p. 270 Premier exp. No. 1, 2.

4) Siehe l. c., p. 255, 251, 249, 232.

1. Ernte	g	4,9	6,5	7,2	6,4	5,0
2. „	„	8,6	10,5	10,0	10,5	2,3
3. „	„	5,8	4,0	3,3	3,7	10,3

Es ist klar, daß unter solchen Bedingungen ein bestimmter Teil der Nährstoffe durch die erste Kultur verbraucht wird, und daß dadurch den folgenden Kulturen bedeutend weniger Nährstoffe zur Verfügung stehen. Trotzdem ist aber das Gewicht der folgenden Kultur oft größer als das der ersten.

Wir können also aus diesen Tatsachen schließen, daß der Pilz im Laufe der ersten Kultur Veränderungen in der Kulturflüssigkeit hervorruft, welche diese für die Pilzentwicklung besonders tauglich machen.

Es schien mir interessant, diese Erscheinung etwas eingehender zu prüfen.

In zwei Versuchen, die im wesentlichen nach dem Raulinschen Verfahren von mir angestellt wurden[1]), also aus einer Reihe von sukzessiven Kulturen auf einem und demselben Substrat, ohne jeden neuen Zusatz von Nährstoffen, bis keine Pilzentwicklung mehr stattfand, bestanden, fand auch ich verhältnismäßig große Unterschiede zwischen den ersten und zweiten Kulturen, nämlich (siehe Vers. XXVI NN 4, 5)

1. Ernte	g	1,823	1,843
2. „	„	3,180	3,075
3. „	„	0,110	0,197

In ihrer vollen Klarheit aber kann diese Erscheinung erst dann hervortreten, wenn in der zweiten und in den weiteren Kulturen der Pilz die Existenzbedingungen findet, die mit denen der ersten Kultur möglichst identisch sind.

Es handelte sich also darum, die Konzentrationen und absoluten Quantitäten der Nährstoffe und alle anderen Kulturbedingungen während der ganzen Versuchsdauer annähernd konstant zu halten.

Wir wissen aber[2]), daß die Konzentration der Salze (KH_2PO_4, $MgSO_4$ und KCl) und sogar der N-Quelle in sehr weiten Grenzen fast ohne Einfluß auf die Pilzentwicklung bleibt[3]). Aus diesem

1) Diese beiden Versuche unterscheiden sich von denen Raulins nur dadurch, dass die Kulturflüssigkeiten nach jeder Kultur wieder auf das frühere Volum (100 ccm) gebracht wurden.

2) Siehe Vers. II und auch p. 5. Vergl. auch Wehmer, Botan. Ztg. 1891, p. 424.

3) Sobald der Salzgehalt höher liegt, als für den Aufbau der Pilzsubstanz notwendig ist, wirken sie wahrscheinlich nur auf osmotischem Wege, und ihre Ansammlung über dieser Grenze kann nur einen schädlichen und in keinem Falle einen befördernden Einfluß auf die Pilzentwicklung ausüben.

Grunde, im Verein mit der Unmöglichkeit, eine einfache und unter den Versuchsbedingungen zulässige Methode für die Salzkontrolle zu schaffen, wurde nur dafür Sorge getragen, daß alle notwendigen Nährsalze (KH_2PO_4, $MgSO_4$, KCl) und die N-Quellen dem Pilz stets im Überschuß zur Verfügung standen.

Das Hauptgewicht jedoch liegt auf den C-Quellen. Da der Verbrauch derselben, verglichen mit dem von Salzen und N-Quellen, und damit auch die durch diesen Verbrauch bedingten Konzentrationsschwankungen, sehr groß sind, und da die Pilzentwicklung durch die Variationen der Quantitäten der C-Quellen auch sehr stark beeinflußt wird, so erweist sich eine wenn auch nur annähernde analytische Kontrolle in diesem Falle als unentbehrlich.

Eine Kontrolle auf analytisch-chemischem Wege war in diesem Fall nicht anwendbar, da sie den Verlust des zu der Analyse genommenen Quantums der Kulturflüssigkeit voraussetzt. Es schien mir darum am vorteilhaftesten, als C-Quelle Dextrose zu wählen und deren Gehalt in der Kulturflüssigkeit durch Polarisation zu bestimmen.

Diese Methode aber muß unter unseren Bedingungen aus vielen Gründen als eine sehr ungenaue betrachtet werden.

Zu der Dextrosedrehung kommt noch die Drehung der N-Verbindungen, in den Fällen, wo N als organische Verbindung gegeben ist, hinzu, und da, wie gesagt, der Gehalt an der N-Quelle in meinen Kulturen ohne jede genaue Kontrolle bleibt, so kann dieser Umstand große Fehler verursachen.

Ferner können sich ja auch im Laufe der Pilzentwicklung irgend welche organische optisch ebenfalls aktive Verbindungen in der Kulturflüssigkeit ausscheiden.

Um genaue Resultate durch Polarisation zu bekommen, muß man bekanntlich für die Bestimmungen immer ungefähr 10prozentige Lösungen anwenden; dieser Forderung konnten wir nun aber auch nicht nachkommen, da wir, je nach dem Verbrauch des Zuckers, im einen Fall sehr kleine, in anderen Fällen sehr hohe Zuckerkonzentrationen der Untersuchung unterwerfen mußten. Es kommt noch der Umstand hinzu, daß sich die Kulturflüssigkeiten, besonders mit höheren Zuckerkonzentrationen, bereits durch die Sterilisierung etwas gelb oder bräunlich färben; die Intensität dieser Färbung wächst allmählich mit der Zahl der Kulturen und liefert somit wieder eine neue Fehlerquelle, indem sie die Genauigkeit der Einstellung des Polarisationsapparats verringert.

Nun wissen wir aber, daß die Polarisation eine sehr große Verwendung in der Zuckerindustrie findet, was teils in der Leichtigkeit und Schnelligkeit der Ausführung dieser Methode, teils aber in einem sehr starken Dominieren des der Bestimmung unterliegenden Stoffes in dem Zuckerrübensaft den übrigen, beigemengten optisch wirkenden Stoffen[1]) gegenüber, seine Erklärung findet.

Ähnlich ist der Fall bei uns. Die Zuckerkonzentration schwankt in unseren Versuchen zwischen 5 und 30%.

Gewöhnlich ist in den Kulturen mit 5% und 10% die ganze Menge, mit 15% fast die ganze Menge des vorhandenen Zuckers nach der Kultur verschwunden, was aus den Tabellen ersichtlich ist, und sich auch durch die Fehlingsche Reaktion nachweisen läßt.

Wir brauchen hier also nach jeder Kultur nur die anfängliche Quantität des Zuckers hinzuzufügen, und können dieserhalb hier die Fehler nicht so groß sein.

Bei den Kulturen mit 20, 25 und 30% ist aber der Gehalt an Zucker im Vergleich mit allen anderen optisch-aktiven Stoffen, die sich in der Kulturflüssigkeit finden können, so groß, daß die durch die letztere verursachten Fehler keine große Bedeutung haben können.

Außerdem ruft bei so großen Konzentrationen sogar eine Erhöhung oder Verminderung des Zuckergehalts um 5% nur einen verhältnismäßig kleinen Effekt hervor[2]).

Wenn wir aber auf die Unterschiede zwischen den Parallelbestimmungen des Zuckers auf Soxhlets titrimetrischem Wege[3]) und durch Polarisation, die fast in allen Kulturen nach der Beendigung des Versuchs ausgeführt wurden und in den Tabellen (Vers. XXII—XXV) angegeben sind, einen Blick werfen, so werden wir uns überzeugen, daß dieser Unterschied nicht so groß ist und nur in einem einzigen Falle etwas über 1,5% steigt, in den meisten Fällen aber unter 1% liegt.

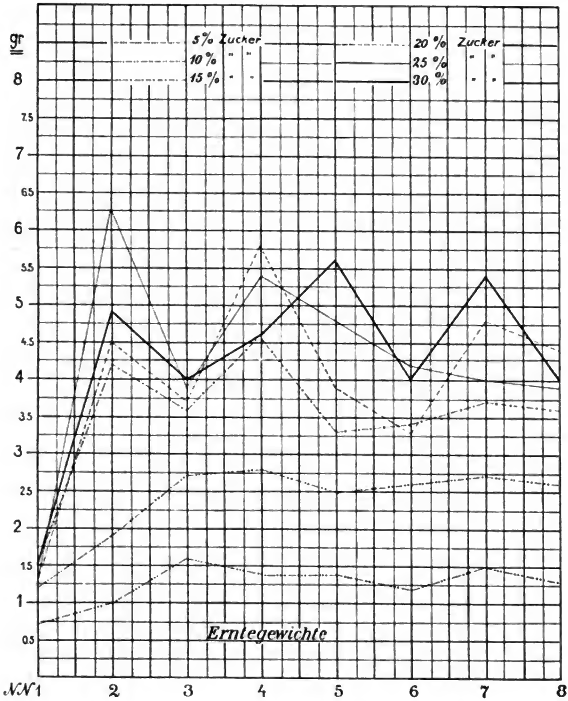
---

1) zB. Asparagin und Glutamin.

2) Siehe Vers. I, III, IV.

3) Die titrimetrische Methode dürfen wir für unseren Fall auch nicht als ganz exakt betrachten, da die Anwesenheit von anderen reduzierenden Stoffen außer Zucker nicht ausgeschlossen ist. Die Möglichkeit aber, durch die Fehlingsche Reaktion die Abwesenheit von Zucker nach der Kultur nachzuweisen (wenn dessen ganze Menge verbraucht ist), erlaubt uns vielleicht den Schluß zu ziehen, daß in der Kulturflüssigkeit keine anderen reduzierenden Stoffe vorhanden sind.

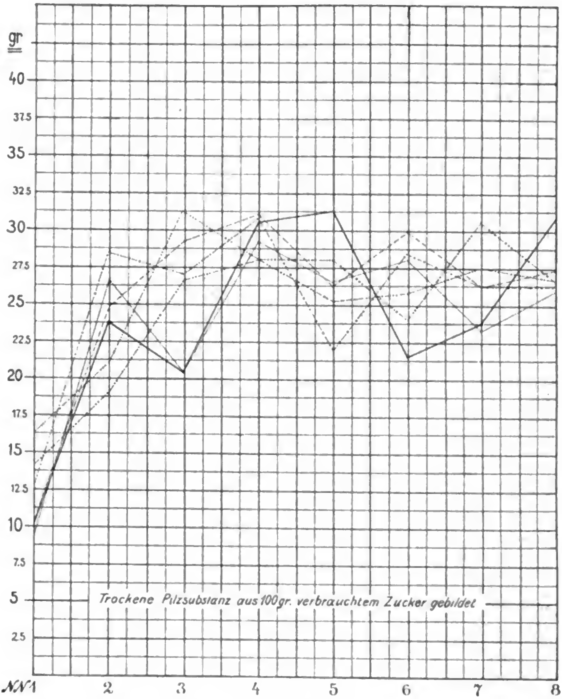
Tafel I.



Aus allem Gesagten können wir schließen, daß, wenn uns auch die betreffende Methode als eine sehr grobe erscheint, wir sie doch für unsere Zwecke unter der Bedingung anwenden dürfen, daß wir aus den mittels dieser Methode erhaltenen Resultaten nur entsprechend allgemeine Schlüsse ziehen und nur die großen Unterschiede der Zahlenwerte beachten, alle Details und Kleinigkeiten aber unbeachtet lassen.

Da ich für alle diese Kulturen das Trockengewicht des Pilzes und die für dieses Trockengewicht verbrauchte Zuckermenge kannte,

Tafel II.



so schien es mir interessant, nicht nur das Pilzgewicht, sondern auch die Werte für den ökonomischen Koeffizienten[1]) als Kriterium der Pilzentwicklung zu berücksichtigen.

Für diese letzteren Zahlen gilt aber die oben erwähnte Warnung in einem noch höheren Grade als für die Pilzgewichte, da in jeder Kultur zu den Fehlern, hervorgerufen durch die Ungenauigkeit der Zuckerbestimmungsmethode, sich hier noch ein bestimmter Verlust

1) Siehe Pfeffer, Pflanzenphys. I, 374. Jahrb. f. wiss. Botan., 1895, XXVIII, p. 257. Kunstmann, l. c. Flügge, Mikroorganismen, 1896, III. Aufl., I, 152.

der Kulturflüssigkeit gesellt, die mit der Pilzdecke zusammen entfernt worden ist[1]). Auf diese Weise wurden von mir zuerst eine Reihe von Kulturen mit verschiedenen Zuckerkonzentrationen 5, 10, 15, 20, 25 und 30% und mit weinsaurem Ammon (1,72%) als N-Quelle angestellt (Vers. XXII).

Die betreffenden Kurven (siehe p. 36—37; auf den Abszissen die NN der Kulturen, auf den Ordinaten die entsprechenden Pilzgewichte in g) zeigen, daß das Pilzgewicht auf allen Zuckerkonzentrationen sehr rasch steigt, in der 2.—3. Kultur auf eine bestimmte, für einige Konzentrationen sehr große Höhe, in den folgenden Kulturen auch sehr hoch bleibt und bis zur achten Kultur in keinem Falle bis zu dem Gewicht der ersten Kultur sinkt.

Für 5% Zucker steigt das Pilzgewicht in der dritten Kultur auf 1,6 g (gegen 0,7 g der ersten Kultur) und schwankt späterhin nur zwischen 1,2—1,5 g, also nicht stark.

Für 10% Zucker ist das Maximum auch in der dritten Kultur erreicht; es ist gleich 2,7—2,8 g, während die erste Kultur nur 1,2 g Trockengewicht besitzt; die folgenden Kulturen schwanken zwischen 2,8—25 g, also auch sehr wenig.

Bei allen höheren Konzentrationen[2]) finden wir eine sehr starke Steigerung schon in der zweiten Kultur und später auch verhältnismäßig sehr starke Schwankungen; aber trotz dieser großen Schwankungen sinken die gesamten Kurven nie unter das doppelte Gewicht der ersten Kulturen.

Die Mycelgewichte der ersten Kulturen bei 15, 20, 25 und 30% Zucker liegen alle sehr nahe aneinander — von 1,3—1,5 g, während in allen späteren Kulturen wir die Gewichte immer höher als 3,3 g finden.

Als maximale Werte haben wir für 25% Zucker in der zweiten Kultur — 6,3 g Trockengewicht (fünfmal so groß als in der ersten

1) Nach Beendigung der Kultur operierte ich folgendermaßen: die Kulturflüssigkeit wurde in einen reinen Kolben abgegossen und, nachdem die Pilzdecke mittels eines Glasstabes in eine vertikale Lage im Innern des Kolbens gebracht worden, wurde der ganze Kulturkolben mit der Decke auf einem Stativ mit dem Hals nach unten über einem anderen Kolben befestigt und 10—20 Minuten in dieser Lage gelassen, bis die letzten Reste der Kulturflüssigkeit abgetropft waren. Die Decke wurde dann mit einer Pinzette herausgenommen, gut ausgewaschen und getrocknet, während in der Kulturflüssigkeit nach dem Filtrieren die Drehungsgröße bestimmt wurde.

2) Also 15, 20, 25 und 30%.

Kultur — 1,3 g) und für 20% — 5,8 g (4,5 mal so groß als die erste Kultur — 1,3 g).

Wenn wir jetzt diese Kurven mit denjenigen vergleichen, die uns die Ökonomie, mit welcher der Pilz arbeitet, charakterisieren, uns also zeigen, wieviel Pilzsubstanz aus 100 g verbrauchten Zuckers gebildet worden ist[1]), so werden wir finden, daß diese Kurven[2]) auch in der zweiten und in der dritten Kultur für 5% und 10%, und in der zweiten Kultur der übrigen Zuckerkonzentrationen *sehr rasch steigen und später immer auf diesem Niveau bleiben. Sie stimmen also in ihrem Verlauf mit den Pilzgewichtskurven ganz überein.*

Die maximalen Steigerungen der Ökonomie sind auch sehr groß; so bildet der Pilz zB. aus 100 g verbrauchten Zuckers in sechs Tagen Trockengewicht:

auf 5% Zucker in der 1. Kultur 16,3 g und in der 3. Kultur 31,3 g, also 1,9 mal soviel,

auf 10% Zucker in der 1. Kultur 14,3 g und in der 4. Kultur 28,0 g, also 2,0 mal soviel,

auf 15% Zucker in der 1. Kultur 12,8 g und in der 4. Kultur 30,8 g, also 2,4 mal soviel,

auf 20% Zucker in der 1. Kultur 10,0 g und in der 4. Kultur 31,2 g, also 3,1 mal soviel,

auf 25% Zucker in der 1. Kultur 9,2 g und in der 4. Kultur 29,3 g, also 3,2 mal soviel,

auf 30% Zucker in der 1. Kultur 10,1 g und in der 5. Kultur 31,3 g, also 3,1 mal soviel.

Die gesamten Erntegewichte aller acht Kulturen, der ihnen entsprechende Zuckerverbrauch und die Verhältnisse zwischen beiden sind dabei folgende:

Bei der Zuckerkonzentration:		5%	10%	15%	20%	25%	30%
Die Gesamternten . . . . g		10,2	19,1	28,0	31,7	33,7	34,3
Der gesamte Zuckerverbr. g		39,6	78,4	110,2	123,1	140,4	143,0
Also aus 100 g verbraucht. Zuckers Pilzsubstanz ausgebildet . . . . g		25,8	24,3	25,4	25,8	24,0	24,0
Wenn die Zahlen für 5% gleich 1 sind, so sind:	die Gesamternten . .	1,00	1,87	2,74	3,11	3,30	3,36
	der gesamte Zuckerverbrauch	1,00	1,98	2,78	3,11	3,54	3,50

1) Siehe Pfeffer, Pflanzenphys. I, 374, auch bei Kunstmann, l. c.

2) Siehe p. 37.

(Fortsetzung der Tabelle.)

Bei der Zuckerkonzentration:	5 %	10 %	15 %	20 %	25 %	30 %
Und die entsprechenden Zahlen für die erste Kultur: Pilzgewicht . . . g	0,75	1,21	1,55	1,34	1,31	1,52
Zuckerverbrauch g	4,60	8,40	12,10	13,40	14,30	15,10
Also aus 100 g verbraucht. Zuckers Pilzsubstanz ausgebildet . . . . g	16,30	14,30	12,80	10,00	9,20	10,10
Wenn die Zahlen für 5 % gleich 1 sind, so sind: Pilzgewicht .	1,00	1,62	2,08	1,80	1,76	2,03
Zuckerverbr.	1,00	1,84	2,63	2,92	3,12	3,29

Aus den angeführten Zahlen können wir folgende Schlüsse ziehen:

Zuerst sehen wir, daß wir imstande sind, auf ein und derselben Kulturflüssigkeit sehr große summarische Pilzgewichte zu ernten und dementsprechend sehr große Quantitäten Zucker im Stoffwechsel des Pilzes umzuwandeln.

Als maximale Werte finden wir in unseren Versuchen für das Pilzgewicht 34,3 g (auf 100 ccm der Kulturflüssigkeit) und für den im Pilzstoffwechsel umgewandelten Zucker — 143 g. Aber auch diese Zahlen sind noch nicht die maximalen, da wir nur acht Kulturen vor uns haben, und wir nicht wissen, welche Zahl von Kulturen wir überhaupt ausführen können.

Trotz dieser großen Zahlen bemerken wir, daß sämtliche Pilzgewichtskurven in ihrem Verlauf im allgemeinen nur eine schwache, für 5, 10 und 30 % Zucker gar keine Neigung zum Fallen zeigen.

Anderseits bleiben aber auch die Verhältnisse zwischen verbrauchtem Zucker und produzierter Pilzsubstanz, wie die Kurven zeigen, von der zweiten bis achten Kultur ungefähr konstant. Daraus folgt, daß unter unseren Bedingungen der Pilz in die Kulturflüssigkeit gar keine, oder nur spurenweise irgend welche schädliche Stoffwechselprodukte ausscheidet.

Dagegen müssen wir annehmen, da der Pilz, wie die Kurven zeigen, in den weiteren Kulturen nicht nur viel größere Ernten liefert, sondern dabei auch viel ökonomischer arbeitet, als in den ersten Kulturen, daß durch die Pilzkultur in der Kulturflüssigkeit irgend welche Veränderungen hervorgerufen werden, die die Pilzentwicklung sehr stark befördern.

In gleichen Zeiträumen bekommen wir in den späteren Kulturen viel größere Pilzernten als in den ersten; die Ausbildung der Pilzsubstanz verläuft also hier mit viel größerer Geschwindigkeit.

Zugleich will ich noch darauf hinweisen, daß die Pilzernten (in sechs Tagen) in den ersten Kulturen für verschiedene Zuckerkonzentrationen verhältnismäßig sehr kleine Unterschiede untereinander zeigen. Maximale Unterschiede haben wir hier zwischen 5 % Zucker 0,747 g Pilzgewicht und 15 % Zucker 1,552 g Pilzgewicht; für 30 % Zucker haben wir 1,520 g Pilzgewicht[1]).

Früher[2]) haben wir ausgeführt, daß sogar ein Fehler in der Zuckerbestimmung von 5 % bei höheren Zuckerkonzentrationen kaum einen großen Effekt hervorrufen kann[3]).

Aus den zuletzt angeführten Zahlen sehen wir sogar, daß eine Differenz in der Zuckerkonzentration von 25 % eine so kleine Schwankung hervorruft, verglichen mit dem Unterschied in der Pilzentwicklung, welche durch den Einfluß der früheren Pilzkultur hervorgerufen wurde, daß wir diesen Einfluß ganz gut unbeachtet lassen können[4]).

Dann ist noch zu bemerken, daß die Pilzernten in den ersten Kulturen mit der Erhöhung der Zuckerkonzentration viel unregelmäßiger steigen, als es in späteren Kulturen geschieht, was aus dem Vergleich der Gewichte der ersten Kulturen mit den Gesamtgewichten von allen acht Kulturen zur Genüge hervorgeht. Das Maximum fällt in den ersten Kulturen auf 15 % Zucker, also auf eine verhältnismäßig schwache Konzentration, während die Gesamtgewichte bis 30 % Zucker immer steigen, dagegen die absoluten Quantitäten des verbrauchten Zuckers in beiden Fällen von 5 % bis 30 % ununterbrochen steigen. Diese Erscheinung ist eine Folge der Beschleunigung der Wachstumsgeschwindigkeit: bekanntlich[5]) ist ja das Wachstum auf höheren Zuckerkonzentrationen etwas langsamer, als auf geringeren, und deshalb werden wir, je nach der Versuchsdauer, ganz verschiedene Kurven für die Pilzgewichte auf den verschiedenen Konzentrationen finden. Nach 2—3 Tagen finden wir zB. auf 5 % Zucker ein größeres Pilzgewicht als auf 30 %[6]); bei größeren Zeiträumen dagegen wird das Verhältnis umgekehrt.

1) Siehe Vers. XXII.

2) Siehe p. 35.

3) Tatsächlich ist dieser Fehler immer viel kleiner, nicht grösser als 2 % (s. p. 35).

4) Hierdurch ist die besprochene ungenaue Methode sogar genauer, als es notwendig ist, um unsere Hauptschlüsse ziehen zu können. Auch in späteren Kulturen sind, abgesehen von diesen, auf 5 und 10 % die Schwankungen des Pilzgewichtes mit der Zuckerkonzentration kleiner, als dessen Steigerung in der 2. Kultur gegen die 1. Kultur.

5) Siehe Kunstmann, l. c., p. 24, Tab. 3—4.

6) Ders., l. c., Tab. 4.

Tatsächlich zeigt uns nun der Versuch III, daß bei längerer Kulturdauer (15 Tage) das Erntegewicht immer bis zu 40—50% Zucker und verhältnismäßig stark[1]) steigt.

Was hier durch größere Kulturdauer, das wird in unserem Fall durch Vergrößerung der Wachstumsgeschwindigkeit erreicht.

In kurzer Zeit bringt es dann der Pilz zu einer Leistung, zu welcher er unter anderen Bedingungen viel längere Zeit gebraucht hätte; und als Resultat davon beobachten wir in den späteren Kulturen eine Verschiebung des Maximumpunktes nach oben (zu den höheren Konzentrationen) im Vergleich zu den ersten Kulturen, wo die Geschwindigkeit des Wachstums noch normal ist.

Ferner ist noch zu bemerken, daß in den ersten Kulturen[2]) sich der ökonomische Koeffizient mit der Konzentrationssteigerung immer vergrößert, während seine Mittelwerte aus allen acht Kulturen von dem Zuckergehalt unabhängig, konstant bleiben.

Diese Erscheinung läßt sich vielleicht auch auf die Beschleunigung der Geschwindigkeit des Pilzsubstanzaufbaues zurückführen.

Denn „im allgemeinen scheint dieser summarische ökonomische Koeffizient unter sonst gleichen Bedingungen für eine schlechter ernährende Kohlenstoffverbindung (also für langsameres Wachsen) geringer auszufallen, als für einen gut ernährenden Körper“[3]) und wir finden, wie erwähnt, bei den höheren Zuckerkonzentrationen gerade ein langsameres Wachstum als bei den niederen, d. h. der Zucker ist bei höheren Konzentrationen eine schlechtere, bei niederen dagegen eine bessere C-Nahrung; aus den Zahlen ersehen wir, daß der ökonomische Koeffizient tatsächlich in den ersten Kulturen bei den höheren Konzentrationen geringer als bei den niederen ist. Da aber die Steigerung der Wachstumsgeschwindigkeit in den späteren Kulturen für die höheren Konzentrationen größer als für die niederen ist, so hat dieser Einfluß in einer ganzen Reihe von Kulturen eine ausgleichende Wirkung auf die ökonomischen Koeffizienten.

Mit weinsaurem Ammon als N-Quelle und mit 20% Zucker wurden noch folgende zwei Versuche angestellt (Vers. XXV).

Das gleiche Volum (100 ccm) der Kulturflüssigkeit wurde nicht,

1) Für 5% 0,460 g Pilzgew., für 40% 2,525 g auf 50 ccm (siehe Vers. III).

2) Mit weinsaurem Ammon als N-Quelle; das gleiche gilt aber auch für Chlorammon.

3) Pfeffer, Pflanzenphys. I, 374.

wie früher, in Erlenmeyersche Kolben, sondern in breite Kristallisierschalen gegossen; die Kulturflüssigkeit hatte also hier eine viel größere Oberfläche und eine viel geringere Höhe. Zu einer von diesen beiden Kulturflüssigkeiten wurden wie gewöhnlich zwei Tropfen Fe_2Cl_6-Lösung zugefügt, zu der anderen dagegen nicht.

Wie die Tabelle Vers. XXV zeigt, haben wir hier, wie schon von vornherein zu erwarten war, eine viel stärkere Pilzentwicklung in den ersten Kulturen, und mit Fe_2Cl_6 etwas bessere als ohne dieses.

Auch eine Steigerung des Pilzgewichtes in späteren Kulturen, gegenüber den ersten, beobachten wir; für die Kulturen ohne Eisen ist sie etwas größer als für die Kulturen mit Eisen; da aber hier die ersten Ernten viel größer sind als in den Erlenmeyerschen Kolben[1]), während die maximalen Pilzernten den früheren ungefähr gleich sind[2]), so ist hier die Steigerung gegenüber den ersten Kulturen relativ viel geringer als in den Versuchen in Erlenmeyerschen Kolben.

Parallel mit dem früher[3]) angeführten Versuch mit weinsaurem Ammon wurde noch ein ganz ähnlicher Versuch mit Chlorammon als N-Quelle angestellt.

Die Tabellen von Vers. XXIII und die Kurven p. 44—45 zeigen uns, daß hier die Verhältnisse ganz andere sind, als bei weinsaurem Ammon. Ich muß vorher darauf hinweisen, daß, wenn wir, wie früher, die Kulturdauer von sechs Tagen annehmen, wir schon in der zweiten Kultur nach Verlauf dieser Zeit fast keine Pilzentwicklung finden; und zwar beobachten wir dabei auf 20, 25 und 30% Zucker gar keine Keimung, auf 5, 10 und 15% ein sehr langsames Wachstum, so daß nach sechs Tagen eine geringe, wenn auch unwägbare Pilzmasse erzeugt ist. Aus diesem Grunde wurde die Dauer der zweiten und ebenso die der dritten Kultur bis auf 20 Tage verlängert.

Nach Verlauf dieser Zeit waren wir imstande, eine beträchtliche Pilzentwicklung konstatieren zu können; dies zeigt uns, daß nach der ersten Kultur die Pilzentwicklung nicht ganz unmöglich geworden ist, sondern nur ihre Geschwindigkeit sehr stark herabgesetzt wurde.

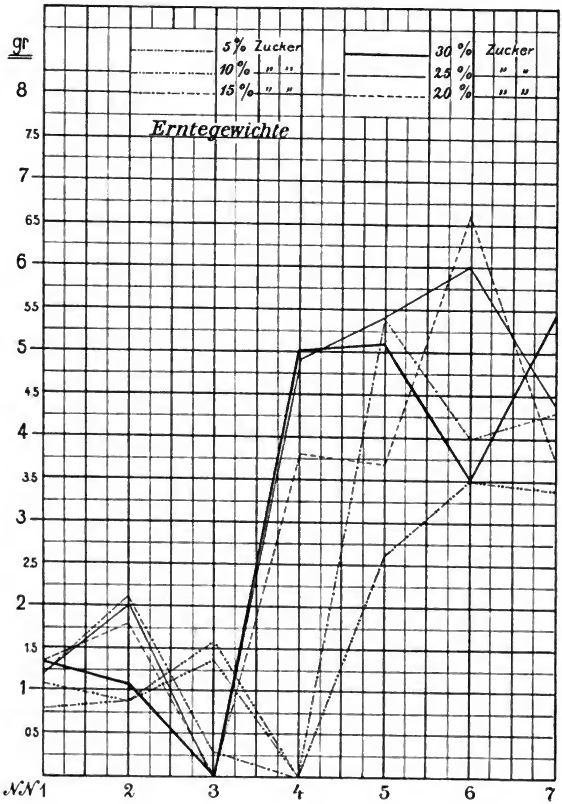
---

1) 4,26 g mit Eisen und 3,55 g ohne Eisen. In den Erlenmeyerschen Kolben auf 20% Zucker mit Eisen 1,345 g.

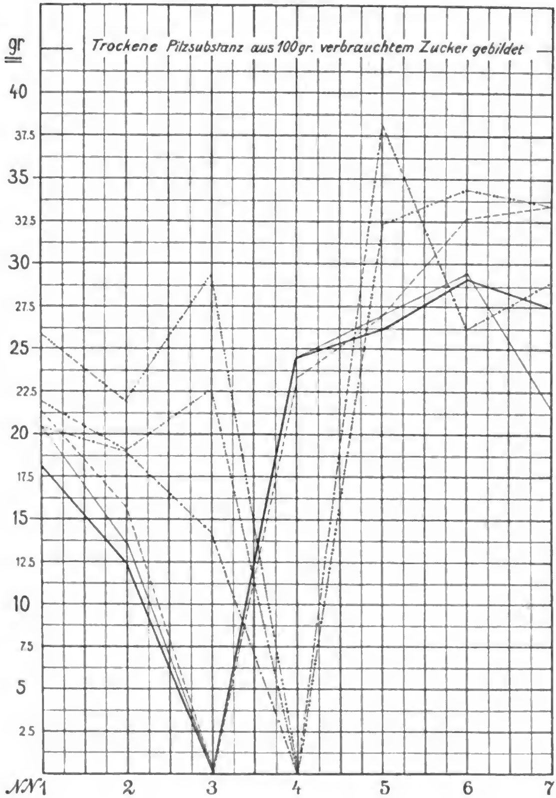
2) 6,73 g ohne Eisen und 5,79 g mit Eisen. In den Erlenmeyerschen Kolben auf 20% Zucker mit Eisen 5,76 g.

3) Siehe Vers. XXII.

Tafel III.


gr
5 % Zucker
10 % " "
15 % " "
30 % Zucker
25 % " "
20 % " "
Erntegewichte
8
7.5
7
6.5
6
5.5
5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
NN 1
2
3
4
5
6
7

Tafel IV.


gr
Trockene Pilzsubstanz aus 100 gr. verbrauchtem Zucker gebildet
40
37.5
35
32.5
30
27.5
25
22.5
20
17.5
15
12.5
10
7.5
5
2.5
№№ 1
2
3
4
5
6
7

Wenn wir also die Kurven der Pilzgewichte für eine sechstägige Kulturdauer zeichnen würden, so müßten wir sämtliche Kurven schon in der zweiten Kultur bis zur Abszisse fallen lassen. Auf der Tabelle p. 44—45 sind die Kurven für eine verschiedene Kulturdauer abgebildet: die erste Kultur dauerte sechs Tage, die zweite und dritte dauerte 20 Tage, und alle späteren Kulturen mit Marmorzusatz sind wieder sechstägig.

Auf diese viel längere Kulturdauer können die kleinen Steigerungen der Pilzgewichte in den Kulturen mit 15, 20 und 25% Zucker gegenüber den ersten Kulturen zurückgeführt werden, nicht aber die Steigerungen der dritten Kultur gegenüber der zweiten mit 5 und 10% Zucker, da sowohl die zweite wie die dritte Kultur in 20 Tagen geerntet wurden.

Mit 20tägiger Kulturdauer können wir also etwas weiter gehen; mit 5, 10 und 15% Zucker sind wir imstande, drei, mit 20, 25 und 30% nur zwei sukzessive Ernten zu sammeln; nach diesen Ernten beobachten wir bei allen Konzentrationen des Zuckers, sogar nach 20 Tagen, gar keine Pilzentwicklung; wir dürfen also annehmen, daß die Kulturflüssigkeit für die Pilzentwicklung schon vollständig untauglich geworden ist.

Auch ein Vergleich der Kurven, die eine Ausbildung der Pilzmasse aus 100 g verbrauchten Zuckers repräsentieren, mit weinsaurem Ammon als N-Quelle, zeigt uns das umgekehrte Verhältniß.

Dort steigen diese Kurven in späteren Kulturen gegen die ersten sehr stark, hier dagegen, besonders bei höheren Zuckerkonzentrationen, sinken sie zu der Abszisse herab [1]).

Da die Pilzentwicklung in den zweiten und dritten Kulturen, wie gesagt, sehr langsam vor sich geht, so ist diese Verringerung der Ökonomie wahrscheinlich nicht durch die längere Kulturdauer [2]), sondern durch die schädliche Wirkung der sich in der Kulturflüssigkeit allmählich anhäufenden Chlor-Ionen [3]) bedingt.

---

1) Für die Kulturen, in denen kein Wachstum eingetreten ist, können selbstverständlich diese Kurven keinen Sinn haben, da der Nenner sowohl als der Zähler des Bruches $\frac{\text{Verbrauchter Zucker}}{\text{Pilzgewicht}}$ in diesem Fall gleich 0 ist, wir also $\frac{0}{0}$ = Unbestimmtheit haben. Da aber diese Kurven gewöhnlich mit den Gewichtskurven in gleichem Sinne verlaufen, und die letzteren in diesen Kulturen bis zur Abszisse fallen, so habe ich auch die „ökonomischen" Kurven in diesen Fällen bis zur Abszisse fallen lassen.

2) Siehe Pfeffer, Pflanzenphys. I, 374; Kunstmann, l. c., p. 40.

3) und zugleich auch der Wasserstoff-Ionen.

Die summarischen Zahlen sind dabei folgende:

Bei der Zuckerkonzentration	5%	10%	15%	20%	25%	30%
Die Gesamternten . . . . g	3,20	3,60	3,66	3,17	3,22	2,43
Der gesamte Zuckerverbr. g	12,36	16,68	19,23	17,97	20,40	15,98
Also aus 100 g verbraucht. Zuckers Pilzsubstanz ausgebildet . . . . g	25,9	21,6	19,0	17,6	15,7	15,2
Wenn die Zahlen für 5% gleich 1 sind, so sind: die Gesamternten . .	1,00	1,12	1,14	0,99	1,01	0,76
der gesamte Zuckerverbrauch	1,00	1,35	1,56	1,45	1,65	1,29
Und die entsprechenden Zahlen für die erste Kultur: Pilzgewicht	0,79	1,12	1,25	1,32	1,22	1,31
Zuckerverbrauch g	3,08	5,09	6,12	6,15	5,91	7,12
Also aus 100 g verbraucht. Zuckers Pilzsubstanz ausgebildet . . . . . . g	25,8	22,1	20,5	21,4	20,5	18,3
Wenn die Zahlen für 5% gleich 1 sind, so sind: Pilzgewicht .	1,00	1,42	1,58	1,67	1,54	1,66
Zuckerverbr.	1,00	1,65	1,99	2,00	1,92	2,31

Aus diesen Zahlen ersehen wir, daß die Gesamternten, die überhaupt eine und dieselbe Kulturflüssigkeit zu liefern imstande ist, verhältnismäßig sehr gering sind. Während wir mit weinsaurem Ammon als Maximum unter allen acht Kulturen 34,3 g[1]) hatten, finden wir hier nicht mehr als 3,7 g; dementsprechend sind wir imstande, mit Ammoniumchlorid nicht mehr als 20,5 g Zucker (mit weinsaurem Ammon aber mehr als 140 g)[2]) durch den Pilz verarbeiten zu lassen.

Es ist interessant, festzustellen, daß die Ökonomie, mit der der Pilz seine Leibessubstanz aufbaut, für die ersten Kulturen bei Chlorammon höher ist, als bei weinsaurem Ammon; so bildet der Pilz aus 100 g verbrauchten Zuckers in sechs Tagen in der ersten Kultur Trockensubstanz

	bei 5%	10%	15%	20%	25%	30% Zucker	
mit Chlorammon	25,8 g	22,1 g	20,5 g	21,4 g	20,5 g	18,3 g	i. Mittel 21,4 g,
mit weinsaurem Ammon . .	16,3 g	14,3 g	12,8 g	10,0 g	9,2 g	10,1 g	i. Mittel 12,1 g.

Gerade umgekehrte Verhältnisse finden wir aber, wenn wir nicht die Zahlen für die erste Kultur, sondern die gesamten Werte einer Reihe von Kulturen betrachten; hier erweist sich, daß der

1) und die Grenze war dabei noch garnicht erreicht. Siehe Tab. Vers. XXII, Kultur auf 30% Zucker.

2) Vergl. Tab. p. 39—40.

Pilz mit weinsaurem Ammon ökonomischer arbeitet als mit Chlorammon; er bildet nämlich aus 100 g Zucker in sechs Tagen

bei	5 %	10 %	15 %	20 %	25 %	30 % Zucker	
mit Chlorammon	25,9 g	21,6 g	19,0 g	17,6 g	15,7 g	15,2 g	i. Mittel 19,2 g,
mit weinsaurem Ammon . .	25,8 g	24,3 g	25,4 g	25,8 g	24,0 g	24,6 g	i. Mittel 25,0 g.

Hier taucht nun aber die Frage auf, welche quantitativen Verhältnisse wir beobachten werden, wenn wir die schädliche Anhäufung von freien Chlor-Ionen (richtiger H-Ionen), die bei dem N-Konsum aus NH_4Cl stattfindet, durch Neutralisierung beseitigen.

Die Neutralisierung der Kulturflüssigkeiten fand nach jeder Kultur durch Zusatz von 5 g Marmorpulver statt[1]).

Wenden wir uns jetzt zu den Kurven p. 44—45, so zeigen uns diese, daß sofort nach dem Marmorzusatz (also in der fünften Kultur für 10 und 15 % Zucker[2]) und in der vierten Kultur für 20, 25 und 30 %) die Pilzgewichte sehr stark steigen, und wir sie in späteren Kulturen (bis zur siebten) immer viel größer als vor dem Marmorzusatz finden. Die Ernten steigen nämlich vor dem Marmorzusatz in keinem Falle höher als bis 2 g[3]), und nach dem Marmorzusatz sind sie nie geringer als 2,6 g[4]); im allgemeinen sind sie sogar noch viel höher.

Als maximale Werte haben wir hier:

6,6 g für 20 % Zucker,
6,0 g für 25 % Zucker,
5,4 g für 15 und 30 % Zucker und
3,5 g für 10 % Zucker.

Ebenso steigen nun aber auch die Kurven der Pilzsubstanzausbildung pro 100 g verbrauchten Zuckers sehr merklich; der Pilz

1) Dieses Marmorpulver war durch Zerreiben von Marmor in einem eisernen Mörser und nachfolgender, ungefähr 2 Min. langer Abschlämmung präpariert worden. Zum Gebrauche kamen die nach 2 Min. sich niederschlagenden Teilchen. Da dieses Pulver grob genug ist, lagert es sich sehr rasch auf den Boden, sodaß die Flüssigkeit ganz klar wird; anderseits ist es fein genug, um die Flüssigkeit nicht zu langsam zu neutralisieren. Die Anwendung eines solchen Marmorpulvers ist viel bequemer als diejenige der geschlämmten Kreide, die gar zu fein ist.

2) Die Kultur mit 5 % Zucker ging leider verloren.

3) Mit 15 und 25 % Zucker in der 2. Kultur in 20 Tagen. Siehe Kurve p. 44 und Tab. Vers. XXIII.

4) Mit 10 % Zucker in der 5. Kultur in 6 Tagen. Siehe Kurve p. 44 und Tab. Vers. XXIII.

arbeitet also nach dem Marmorzusatz viel ökonomischer als vor dem Zusatz.

Wir sehen auch, daß weder die Pilzgewichtskurven noch die „ökonomischen" Kurven eine bestimmte, klar ausgesprochene Tendenz zum Fallen in ihrem weiteren Laufe haben, was darauf hinweist, daß der Pilz außer der durch Marmorzusatz beseitigten, freiwerdenden Salzsäure keine anderen (oder nur sehr schwache) schädlichen Veränderungen in der Kulturflüssigkeit verursacht.

Es ist jetzt interessant, die Resultate, die wir für Chlorammon mit Marmorzusatz als N-Quelle erhalten haben, mit denen für weinsaures Ammon (ohne Marmorzusatz) zu vergleichen, um die Frage zu entscheiden, ob vielleicht das Chlorammon durch die Beseitigung der disponibel werdenden Salzsäure eine ebenso gute N-Quelle geworden ist wie das weinsaure Ammon.

Tatsächlich sehen wir aus der Vergleichung der Kurven auf p. 36, 37 mit denen p. 44, 45, daß die Pilzernten, wie auch die Ökonomie der Pilzarbeit für Chlorammon mit denen für weinsaures Ammon im wesentlichen übereinstimmen, sobald der Marmorzusatz stattfand.

Wenn wir die mittleren und die maximalen Werte für beide Fälle bei allen Zuckerkonzentrationen zusammenfassen, so finden wir folgendes:

Zuckerkonzentration	Pilzgewichte				Aus 100 g verbraucht. Zuckers Pilzsubstanz ausgebildet			
	weinsaur. Ammon		Chlorammon		weinsaur. Ammon		Chlorammon	
	mittl.	maxim.	mittl.	maxim.	mittl.	maxim.	mittl.	maxim.
10 %	2,4 g	2,8 g	3,15 g	3,5 g	24,3 g	28,0 g	33,7 g	34,5 g
15 %	3,5 „	4,6 „	4,6 „	5,4 „	25,4 „	30,8 „	31,1 „	38,1 „
20 %	4,0 „	5,8 „	4,5 „	6,6 „	25,8 „	31,2 „	29,2 „	33,6 „
25 %	4,2 „	6,3 „	5,2 „	6,0 „	24,0 „	29,3 „	25,8 „	29,6 „
30 %	4,3 „	5,6 „	4,8 „	5,4 „	24,6 „	39,3 „	26,6 „	29,2 „
Mittl.	3,68	**5,02**	4,46	**5,38**	24,82	**31,72**	29,28	**33,0**

Chlorammon ist also unter solchen Bedingungen mindestens eine gleichwertige, sogar eine etwas bessere N-Quelle als weinsaures Ammon, worauf schon die mittleren Werte der Erntegewichte und besonders die mittleren Zahlen der ökonomischen Koeffizienten hinweisen. Der Pilz arbeitet mit Chlorammon (+ Marmor) merklich ökonomischer als mit weinsaurem Ammon.

Außerdem wurden noch Versuche mit Ammonnitrat und auch solche mit Chlorammon als N-Quelle angestellt, jedoch wurde hier schon bei Beginn des Versuches ein Zusatz von Marmor gegeben[1]) (Vers. XXIV).

In diesem Fall finden wir, wie auch schon Wehmer[2]) vielmals beobachtet hatte, eine starke Erniedrigung des Wachstums[3]) im Gegensatz zu den Kulturen ohne Marmorzusatz.

Wir bekommen hier[4]) in den ersten Kulturen nur 0,215 g Pilzgewicht für Chlorammon und 0,235 g Pilzgewicht für Ammonnitrat, während wir ohne Marmorzusatz für Chlorammon 1,317 g[5]) und für Ammonnitrat 1,105 g[6]) unter gleichen Bedingungen erhalten, also eine ganz klar ausgesprochene Erniedrigung.

Aber schon in der zweiten Kultur steigt, wie die Kurve auf S. 52 zeigt, das Pilzgewicht mit Chlorammon auf seine gewöhnliche Höhe, 1,2 g; in der dritten Kultur erreicht es die Höhe von 4,2 g, in der vierten jene von 3,8 g. Bei Ammonnitrat steigt die Kurve schon in der zweiten Kultur auf 2,6 g, also ungefähr 2,4 mal höher als für die gewöhnliche Ernte (ohne Marmor), 1,1 g. Später aber steigt sie nicht weiter, sondern bleibt in der dritten und vierten Kultur auf diesem Niveau, das jedoch immer niedriger liegt als bei der Kurve für Ammonchlorid.

(Mit Chlorammon ohne Marmor haben wir, wie gesagt[7]), unter den gleichen Bedingungen, bei gleicher Kulturdauer (6 Tagen), schon in der zweiten Kultur keine Entwicklung mehr.)

Mit Marmorzusatz finden wir, ebenso wie bei Chlorammon, auch bei Ammonnitrat nicht nur eine starke Wachstumserniedrigung, sondern auch eine noch stärkere Erniedrigung[8]) der Ökonomie, mit welcher der Pilz den Zucker verbraucht (siehe die Kurven p. 53).

Auf Chlorammon (+ Marmor) bildet *Aspergillus niger* in der ersten Kultur aus 100 g verbrauchten Zuckers nur 3,82 g, auf

---

1) Diese Versuche wurden nur mit einer Zuckerkonzentration, nämlich mit 20 %, ausgeführt; das Volum war dabei wie gewöhnlich 50 ccm, die Kulturdauer betrug 6 Tage. Siehe Vers. XXIV.

2) Botan. Ztg. 1891, p. 355 und Tab. I—III. Siehe auch Butkewitsch, Jahrb. f. wiss. Botan., XXXVIII, 1902, p. 178.

3) In den ersten Kulturen.

4) Siehe Vers. XXIV.

5) Siehe Vers. XXIII.

6) Aus einem in den Tabellen nicht angeführten Versuch.

7) Siehe p. 46.

8) In den ersten Kulturen.

Ammonnitrat (+ Marmor) 4,52 g Trockensubstanz, während er auf Chlorammon ohne Marmor 21,4 g bildet; in den späteren Kulturen dagegen sehen wir auch in dieser Hinsicht eine sehr starke Begünstigung der Pilzentwicklung; es wurde nämlich aus 100 g verbrauchten Zuckers Trockensubstanz ausgebildet:

	1. Kult.	2. Kult.	3. Kult.	4. Kult.
mit Chlorammon (+ Marmor)	3,82 g	15,6 g	29,3 g	25,3 g
mit Ammonnitrat (+ Marmor)	4,52 g	27,8 g	24,5 g	21,3 g

Weiter wurden noch ähnliche Parallelversuche mit oxalsaurem und weinsaurem Ammon mit und ohne Marmorzusatz angestellt. Leider war aber eine Bestimmung des Zuckers durch Polarisation in den Kulturen mit Marmorzusatz hier unmöglich, da die betreffenden Kulturflüssigkeiten nach der Sterilisierung tiefbraun geworden waren. Ich fügte darum zu diesen Kulturen immer nur 10 g Zucker hinzu.

In den ersten Kulturen ist oxalsaures Ammon[1]) (Vers. XXIV) eine etwas bessere N-Quelle als weinsaures Ammon[2]).

Marmorzusatz ruft bei weinsaurem Ammon ebenso wie bei Ammonnitrat und Chlorammon in den ersten Kulturen eine Erniedrigung des Wachstums hervor, tut dies aber nicht bei oxalsaurem Ammon.

So haben wir für die Kulturen

mit:	weinsaur. Ammon	oxals. Ammon
mit Marmor	1,400 g	2,815 g
ohne Marmor	2,335 g	2,590 g

Bei weinsaurem Ammon mit Marmor beobachten wir in den weiteren Kulturen eine sehr große Steigerung (in der ersten Kultur 1,40 g, in der zweiten 5,145 g)[3]).

Bei weinsaurem Ammon ohne Marmor haben wir eine Steigerung wie in den früheren Versuchen. Oxalsaures Ammon ohne Marmor gibt auch eine Steigerung, die der für weinsaures Ammon ähnlich ist (Vers. XXIV):

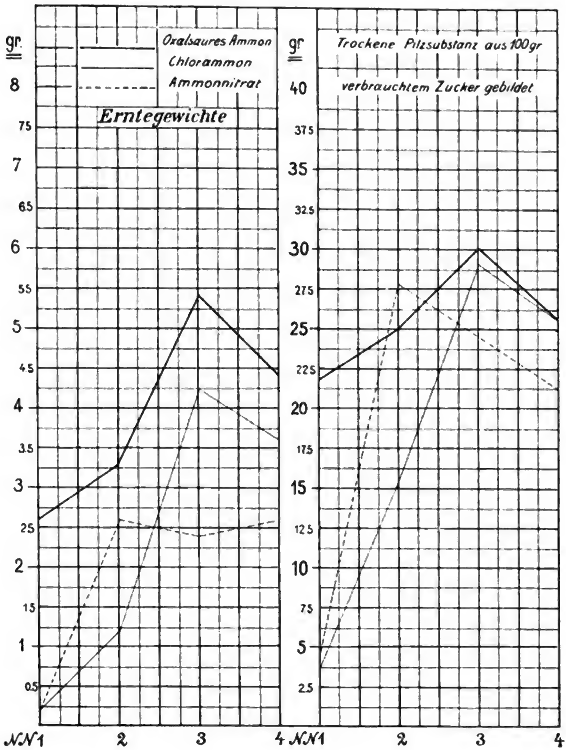
---

1) Ohne Marmor.

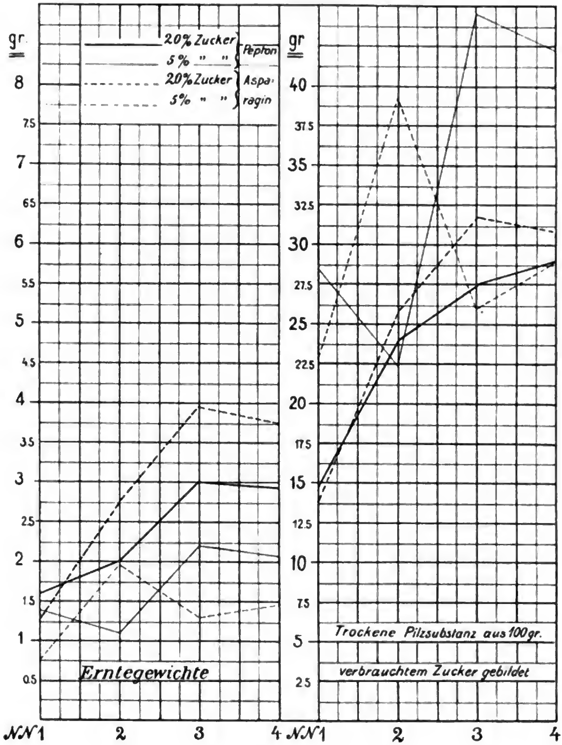
2) Obgleich in dieser Kultur, wie gesagt, die Zuckerbestimmungen nicht ausgeführt werden konnten, so ist dennoch diese Steigerung so groß, daß wir sie nicht auf die Veränderung des Zuckergehalts zurückführen dürfen.

3) Siehe Anm. p. 51.

Tafel V.


gr.
Oxalsaures Ammon
Chlorammon
Ammonnitrat
Erntegewichte
8
7.5
7
6.5
6
5.5
5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
gr
Trockene Pilzsubstanz aus 100 gr
verbrauchtem Zucker gebildet
40
37.5
35
32.5
30
27.5
25
22.5
20
17.5
15
12.5
10
7.5
5
2.5
№№ 1
2
3
4
№№ 1
2
3
4

Tafel VI.


20% Zucker
5% " "
Pepton
20% Zucker
5% " "
Aspa-ragin
gr
8
7.5
7
6.5
6
5.5
5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
Erntegewichte
gr
40
37.5
35
32.5
30
27.5
25
22.5
20
17.5
15
12.5
10
7.5
5
2.5
Trockene Pilzsubstanz aus 100 gr.
verbrauchtem Zucker gebildet
№№ 1
2
3
4
№№ 1
2
3
4

mit weinsaurem Ammon von 2,33 g der ersten Kultur auf 4,86 g der vierten Kultur,

mit oxalsaurem Ammon von 2,59 g der ersten Kultur auf 5,37 g der dritten Kultur.

Bei oxalsaurem Ammon mit Marmor finden wir eine relativ schwache Steigerung; nach drei Kulturen können wir aber keine Pilzentwicklung mehr beobachten[1]).

Außer Ammonsalzen wurden noch auf dieselbe Weise Pepton[2]) und Asparagin[2]) als N-Quelle bei 5 und 20% Zucker untersucht (Vers. XXV). Bei einem so großen Gehalt an Zucker, wie 20% (also 20 g) es sind, muß die Bedeutung von Pepton und Asparagin als C-Quellen sehr gering sein, obgleich sie sogar durch die Dextrose nicht gänzlich geschützt wurden.

Bei großem Zuckergehalt findet nach Butkewitsch[3]) (in den Kulturen mit 4% Pepton und 10% Zucker auf 100 ccm) keine Ammoniakanhäufung in der Kulturflüssigkeit statt, wie sie ohne Zucker zutage tritt.

Mit 0,2% Zucker und mit 6% Zucker (auf 50 ccm) konnte er dagegen eine Ammoniakanhäufung nachweisen[4]); hier war die ganze Menge des Zuckers am Ende des Versuchs verschwunden. Da wir in unseren Kulturen auf 5% Zucker auch gewöhnlich einen totalen Zuckerverbrauch finden, so können wir hier auch eine Ammoniakanhäufung und vielleicht auch eine damit verbundene Veränderung der Reaktion der Kulturflüssigkeit erwarten.

Die Prüfung zeigte uns tatsächlich[5]), daß nach drei Kulturen die Kulturflüssigkeit in den Kulturen mit 20% Zucker noch stark sauer[6]), mit 5% dagegen neutral oder ganz schwach sauer reagierte.

In den ersten Kulturen sind die Ernten mit diesen beiden

---

1) Die Kulturflüssigkeit reagierte dabei auf Lackmus alkalisch; befeuchtete rote Lackmuspapierstreifen wurden, in die Atmosphäre der Kulturkolben gehängt, sehr rasch blau; aus der Kulturflüssigkeit entweicht also wegen ihrer alkalischen Reaktion freies, resp. kohlensaures Ammoniak. In dieser alkalischen Reaktion der Kulturflüssigkeit glaubte ich zunächst die Ursache der Pilzentwicklungshemmung zu finden; aber nach der Ansäuerung mit Phosphorsäure fand auch keine Pilzentwicklung statt. — Dieser Versuch wurde übrigens nicht wiederholt, und da dessen Resultat ganz vereinzelt dasteht, darf ich keine Schlüsse daraus ziehen.

2) Pepton 1,75% und Asparagin 1,23% = 1% Chlorammon an N-Gehalt.

3) Jahrb. f. wiss. Botan., XXXVIII, 1902, p. 205—206.

4) Ebenda, p. 204. Wahrscheinlich gilt das gleiche auch für Asparagin.

5) Siehe Vers. XXV.

6) Gegen Lackmus.

N-Quellen ziemlich groß; mit Pepton sind sie für beide Konzentrationen etwas größer als für Asparagin (siehe die Kurven p. 53).

In den späteren Kulturen beobachten wir auch hier eine Steigerung der Pilzernten[1]).

Diese Steigerung ist für Pepton (bei 20 % Zucker) geringer als für Asparagin. So haben wir (Vers. XXV):

	mit Pepton	mit Asparagin
in der 1. Kultur	1,61 g	1,23 g
in der 3. Kultur	3,05 g	3,95 g

In einer Reihe sukzessiver Kulturen zeigt sich also Asparagin als eine etwas bessere N-Quelle als Pepton, währendin den ersten Kulturen ein umgekehrtes Verhältnis vorhanden zu sein scheint.

In den Kulturen mit 5 % Zucker sehen wir auch in den ersten zwei Kulturen[2]) ähnliche Verhältnisse:

	mit Pepton	mit Asparagin
in der 1. Kultur	1,42 g	0,76 g
in der 2. Kultur	1,12 g	1,96 g

Die Ökonomie der Pilzarbeit steigt auch mit der Steigerung der Erntegewichte und erreicht (wie die Kurven p. 53 zeigen) eine besondere Höhe in den Kulturen mit 5 % Zucker, so zB. 39,3 g Trockensubstanz aus 100 g verbrauchten Zuckers für Asparagin und 44 g für Pepton.

Im allgemeinen ist mit Pepton und Asparagin die Wachstumsbeschleunigung durch die vorhergehende Pilzkultur, also die maximale Höhe, die das Pilzgewicht in einer Reihe von sukzessiven Kulturen erreichen kann, niedriger als mit Ammonsalzen[3]).

Wenn wir nun jetzt die Resultate für alle von uns untersuchten N-Quellen zusammenfassen und miteinander vergleichen, so werden wir das auf p. 56 folgende finden.

Wir finden die maximalen Zahlen in allen acht Kolumnen bei Chlorammon mit Marmor, wenn letzterer nicht bei Beginn des Versuchs, sondern erst nach den zwei ersten Kulturen, sobald die Kulturflüssigkeit schon durch die Anhäufung von Chlor-Ionen ungeeignet für die Pilzentwicklung geworden war, zugegeben wurde.

1) Wir müssen hierbei hauptsächlich den Zahlen für 20 % Zucker unsere Aufmerksamkeit zuwenden, da in den Kulturen mit 5 % Zucker das Bild durch die erwähnte Veränderung der Reaktion ein verwickeltes geworden sein kann.

2) Wenn die Reaktion der Kulturflüssigkeit noch nicht stark verändert ist.

3) Mit weinsaurem und oxalsaurem Ammon ohne Marmor und mit Chlorammon und Ammonnitrat bei Marmorzusatz.

Mit 20% Zucker. Vol. = 100 ccm; t = 25—26° C. Kulturdauer 6 Tage.	Erntegewichte g				Aus 100 g verbr. Zuckers Pilzsubstanz ausgebildet g			
	Die ersten Kulturen	Mittl. aus d. 4 erst. Kulturen	Max. aus d. 4 erst. Kulturen	Mittl. aus d. 2., 3. u. 4. Kultrn	Die ersten Kulturen	Mittl. aus d. 4 erst. Kulturen	Max. aus d. 4 erst. Kulturen	Mittl. aus d. 2., 3. u. 4. Kultrn.
Weinsaures Ammon	1,34	3,85	5,76	4,65	10,00	23,80	31,20	28,40
Oxalsaures Ammon	2,59	3,90	5,37	4,34	21,70	25,50	30,20	26,80
Chlorammon + Marmor[1])	0,215	2,32	4,24	3,02	3,80	18,50	29,30	23,40
Ammonnitrat + Marmor	0,235	1,96	2,62	2,54	4,50	19,50	27,80	24,50
Asparagin	1,23	2,92	3,95	3,48	13,90	25,50	31,50	29,40
Pepton	1,61	2,41	3,05	2,68	14,90	23,90	29,20	27,00
Chlorammon mit Marmor[2])	**3,80**	**4,47**	**6,58**	**4,69**	**23,40**	**28,70**	**33,60**	**31,20**
Chlorammon ohne Marmor[3])	1,32	—	1,85	—	21,40	—	21,40	—

Ammonchlorid ist in diesem Falle die beste N-Quelle für *Aspergillus niger*, sowohl in bezug auf die erzeugten Pilzgewichte als auch in bezug auf die Ökonomie des Zuckerverbrauchs.

An zweiter Stelle steht scheinbar oxalsaures oder weinsaures Ammon. Das erste hat größere Gewichte für die erste Kultur ergeben und scheint etwas günstiger in ökonomischer Hinsicht zu sein; das zweite aber gestattet uns etwas höhere maximale Ernten zu erhalten.

Weiter aber finden wir schon ganz verschiedene Verhältnisse, je nachdem wir die ersten Kulturen oder die folgenden (also die zweiten, dritten und vierten) Kulturen vergleichen.

Eine N-Quelle, die in der ersten Kultur zu den besten gehört, wie zB. Pepton, das hier auf dem dritten Platze steht, kann in den vierten Kulturen weit hinter anderen N-Quellen rangieren; aus der späteren Kolumne sehen wir, daß Pepton auf den sechsten Platz verschoben worden ist.

Wir sehen, daß unter der Bedingung, daß die Anhäufung von schädlichen anorganischen Säuren (bei N-Konsum aus deren Am-

1) Für den Versuch, wo der Marmorzusatz schon bei Beginn des Versuchs stattfand.

2) Für den Versuch, wo der Marmorzusatz nach dem vollständigen Aufhören der Pilzentwicklung, also nach zwei Kulturen, stattfand.

3) Hier war die Dauer der ersten Kultur 6 Tage, die der anderen aber 20 Tage, und da hier im ganzen nur zwei Kulturen möglich waren, so können wir die mittleren Werte nicht ausrechnen.

monsalzen) resp. von Basen (bei N-Konsum aus Pepton und Asparagin) durch Marmorzusatz, resp. durch großen Gehalt an Zucker, beseitigt wird, der *Aspergillus niger* mit allen untersuchten N-Quellen die Fähigkeit besitzt, im Laufe seiner Entwicklung in der Kulturflüssigkeit einige, die Wachstumsgeschwindigkeit beschleunigende Veränderungen hervorzurufen; quantitativ ist diese Beschleunigung von der Qualität der N-Quelle sehr stark abhängig.

Mit einigen N-Quellen, insbesondere mit Chlorammon, beobachten wir eine sehr große, mit anderen, zB. mit Ammonnitrat und Pepton, eine relativ viel geringere Beschleunigung.

Wenn wir uns jetzt nach den Ursachen fragen, welche diese Beschleunigung der Geschwindigkeit der Pilzmassenausbildung hervorrufen, so können wir folgende drei Möglichkeiten voraussetzen.

Der Pilz könnte vielleicht im Laufe seiner Entwicklung irgend welche organische Verbindungen in die Kulturflüssigkeit ausscheiden, die ihn später besser als die dargebotenen Nährstoffe mit Kohlenstoff versorgten; dies ist aber ganz unwahrscheinlich, da wir dem Pilz Dextrose darbieten, und wir keine andere C-Quelle kennen, die für *Aspergillus niger* noch besser wäre.

Der Pilz könnte aber auch N-Verbindungen ausscheiden[1]), die bessere N-Quellen als die dargebotenen wären; doch kennen wir auch hier bis jetzt keine N-Verbindung[2]), die eine so unvergleichlich bessere N-Quelle gegenüber dem weinsauren Ammon oder dem Pepton[3]) wäre.

Außerdem zeigen uns die Analysen[4]) der Kulturflüssigkeit, daß mit weinsaurem Ammon als N-Quelle nach den Kulturen sich fast die ganze Menge des vorhandenen Stickstoffs als Ammoniak-Stickstoff erweist.

Wir finden nämlich in den Parallel-Kulturen mit den Ernten 1,823 g (I) und 1,843 g (II), auf 20% Zucker bei 100 ccm Volum, bei 25—26° C. nach sechs Tagen in 25 ccm der Kulturflüssigkeit

	I	II
Gesamt-N	44,94 mg	45,50 mg
NH_3-N	41,79 mg	42,56 mg,
also nicht-NH_3-N	3,15 mg	2,94 mg

1) Vergl. Nägeli, Theorie d. Gährung, 1879, 79, 105. Gayon et Dubourg, C. R. 1886, t. 102, p. 978. Pfeffer, Pflanzenphys. 1, 89.

2) Siehe bei Czapek, l. c.

3) Beide werden zu den besten N-Quellen gerechnet.

4) Siehe Vers. XXVII, No. 5 und 6.

Die gefundenen Werte für den anderweitigen, nichtammoniakalischen N liegen aber schon innerhalb der Fehlergrenzen[1]).

Aus allem Gesagten folgt, daß auch unsere zweite Voraussetzung ganz unwahrscheinlich ist. Uns bleibt nur noch[2]) die Annahme, daß der Pilz einen Stoff, bezw. Stoffe in die Kulturflüssigkeit ausscheidet, die nicht als Nährstoffe, sondern als Reiz auf den Pilz wirken. Bekanntlich wirken auf diese Weise verschiedene Metalle, wie Co, Cu, Mn, Li, Zn[3]) usw., auch zB. Fl[3]), und alle Gifte in kleinen Zugaben zum Substrat.

Über die Qualität und die quantitativen Verhältnisse dieser Stoffe können wir zur Zeit nichts sagen[4]).

---

1) Da die Gesamtvolumina der untersuchten Kulturflüssigkeiten 83,5 und 84,5 ccm waren (siehe Vers. XXVII, No. 5 und 6), so haben wir im ganzen in I 10,52 mg und in II 9,94 mg von nicht-NH_3-N. Obwohl bei den Versuchen mit Pepton als N-Quelle keine besonders auffallend großen Ernten erhalten wurden, so wurde versucht, den Kulturen mit 20% Zucker und 1,72% weinsauren Ammons eine den letzten Zahlen entsprechende Peptonmenge hinzuzufügen (über den N-Gehalt in Witts Pepton siehe Butkewitsch, Jahrb. f. wiss. Botan., XXXVIII, 1902, Tab. auf p. 231; rund ist er gleich 14%). Aus den Zahlen von Vers. XXVII, No. 1, 2, 3, 4 ist ersichtlich, daß die betreffenden Peptonzusätze gar keinen Einfluß auf die Erntegewichte ausgeübt haben.

2) Pfeffer, Pflanzenphys. I, p. 408, 574; II, p. 128. Jahrb. f. wiss. Botan., XXVIII, 1895, 238. Raulin, Ann. d. sc. nat., XI, 1869, Ser. V, p. 243—254.

3) Richards, Jahrb. f. wiss. Botan., 1897, Bd. XXX, p. 665.

4) Wenn Pfeffer die Wachstumsbeschleunigung durch Metalle unter anderem auch als katalytische Wirkungen betrachtet: „Teilweise dürfte es sich um physiologische Gegenreaktionen handeln . . . . .“ „In anderen Fällen mögen einfachere chemische Reaktionsbeschleunigungen vorliegen, wie in den katalytischen Wirkungen“ (siehe Jahrb. f. wiss. Botan., XXVIII, 1895, 238), so dürfen wir vielleicht für unseren Fall in den autokatalytischen Erscheinungen eine, wenn auch entfernte Analogie finden (Über die Autokatalyse siehe Ostwald, Lehrb. d. allg. Chem., 2. Aufl., II 2, p. 263—269. Über Katalyse, Vortr., geh. auf der 73. Naturf.-Versammlung zu Hamburg 1901, p. 22—24. Bredig, Die Elemente d. chem. Kinet. in „Ergebnisse d. Physiologie“, herausgeg. von Ascher & Spiro, 1902, p. 144—145, hier auch die Literaturangaben. Schilow, Zeitschr. f. physik. Chem., XLII, 6, p. 641). In diesem Falle der Katalyse entsteht der Katalysator als Produkt der Reaktion, die er später beschleunigen wird. „. . . . durch die Reaktion selbst ein Beschleuniger entsteht“ (Ostwald, Über Katalyse, p. 22). Äusserlich wenigstens haben wir hier mit unserem Fall eine vollständige Übereinstimmung. Kupfer zB. löst sich in reiner Salpetersäure viel langsamer als in einer Salpetersäure, in welcher schon etwas Kupfer aufgelöst ist. — Der Pilz bildet seine Leibessubstanz auf einem frischen Substrat viel langsamer als auf einem Substrat, auf welchem schon früher etwas Pilzsubstanz ausgebildet worden war. Wie weit aber diese Analogie geht, ob sie mehr als eine nur äußerliche ist, können wir zur Zeit nicht sagen. Ob diese Erscheinung überhaupt als eine katalytische oder vielleicht als eine „physiologische Gegenreaktion“ (siehe die soeben zitierten Zeilen von Pfeffer) betrachtet werden muß, müssen wir sogar dahingestellt sein lassen und uns damit zufrieden geben, die erwähnte oberflächliche Ähnlichkeit mit den autokatalytischen Erscheinungen zu konstatieren.

Am Schluß dieses Kapitels will ich noch hervorheben, daß neuerdings auch analoge Verhältnisse für Hefen bekannt geworden sind. Nach Thibaut[1]) ruft nämlich bei *Saccharomyces Pastorianus* III (einer wilden Heferasse) und bei der Kulturhefe Frohberg ein Zusatz von eigenen Gärungsprodukten in die Kulturflüssigkeit bei Zimmertemperatur eine ziemlich starke Beschleunigung der Vermehrungsgeschwindigkeit hervor.

Ebenso wirkt auch ein Zusatz von den Gärungsprodukten der Hefe Frohberg zu den Kulturen von *Saccharomyces Pastor.* III und vice versa. Es wurde in diesen beiden Fällen nicht nur die „Vermehrungsenergie“[2]), also die Vermehrungsgeschwindigkeit, in den ersten vier Tagen beschleunigt; auch das „Vermehrungsvermögen“[3]), d. h. die schließliche Vermehrungsgrenze, die während der ganzen Versuchsdauer (28 Tage) erreicht werden konnte, war stark nach oben verschoben.

(Bei Kellertemperatur finden wir dabei nur für das „Vermehrungsvermögen“ eine Erhöhung, die „Vermehrungsenergie“ dagegen ist stark verringert.)

Die Zahlen für die Kulturen mit einem Zusatz von Gärungsprodukten sind zwei- und sogar dreimal so groß, als die für die Kulturen ohne Zusatz; die Beschleunigung ist also eine ganz merkliche.

Allerdings dürfen wir diese Erscheinung nicht ohne weiteres mit unserem Fall vergleichen, da eine Vergrößerung der Zahl der Hefezellen nicht auch eine Vergrößerung der Trockensubstanz mit sich zu bringen braucht. Es kann sich die Vermehrungsgeschwindigkeit erhöhen, ohne daß die Geschwindigkeit in der Ausbildung der Leibessubstanz beeinflußt würde.

Ein ähnliches Verhalten einiger Bakterienarten wurde schon früher (p. 2) erwähnt[4]).

Ich muß noch bemerken, daß alle diese stark „beschleunigten“ *Aspergillus*-Kulturen ganz normal und kräftig-gesund aussahen und sehr reichlich fruktifizierten.

1) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., IX, 1902, p. 794, 795 und die Tab. 12 und 13 auf p. 832.

2) Die Zahl der Hefezellen, die in vier Tagen aus einer Zelle entstanden sind.

3) Die Zahl der Hefezellen, die in 28 Tagen (der ganzen Versuchsdauer) aus einer Zelle entstanden sind.

4) Vielleicht kann bei den Bakterien diese Wachstumsförderung durch eigene Stoffwechselprodukte eine Rolle bei der Ausbildung von Involutionsformen spielen; sie sind ja auch öfters durch viel größere Dimensionen ausgezeichnet und bilden sich gewöhnlich in alten Kulturen.

IV. Allgemeines.

Aus den vorhergehenden Kapiteln ist ersichtlich, daß wir bei unseren typischen, gewöhnlich in den Laboratorien gebräuchlichen Nährmedien[1]), mit den anorganischen Ammonsalzen als N-Quelle, notwendigerweise eine Anhäufung von freien anorganischen Säuren finden müssen. Die durch diese Anhäufung hervorgerufene Azidität ist dem N-Konsum und damit also auch (ungefähr) dem erzeugten Pilzgewicht proportional. Da das Erntegewicht bis zu einer bestimmten Grenze mit dem Gehalt an der C-Quelle wächst, so ist also diese Azidität auch bei höheren Konzentrationen höher und kann ihre schädliche Wirkung besonders bei höheren Konzentrationen der C-Quelle schon in den ersten Kulturen ausüben.

Aber auch bei niederen Konzentrationen kann sie nicht ohne Einfluß bleiben.

Wenn wir also zB. unter ganz gleichen Ernährungsbedingungen durch Variieren der Kulturbedingungen (Temperatur, Oberfläche u. a.) verschieden große Ernten erhalten, so werden dabei die größeren Ernten durch diese Azidität oft sehr stark, die geringeren dagegen nur schwach beeinflußt. Die Resultate werden also dadurch unvergleichbar. Unter jenen Ernährungsbedingungen, wo diese Säureanhäufung durch eine zweckmäßige Auswahl der N-Quelle ausgeschlossen ist, können wir dagegen immer eine mehr oder weniger starke Wachstumsbeschleunigung konstatieren. Mit anorganischen Ammonsalzen als N-Quelle findet diese Beschleunigung auch statt, ist aber hier durch die schädliche Wirkung freiwerdender Säuren maskiert: Wird ihre Wirkung zB. durch Neutralisierung beseitigt, so tritt die Beschleunigung sofort ganz klar hervor. Bei dem C-Konsum aus den Salzen organischer Säuren finden wir umgekehrt eine Anhäufung von freien Basen.

Ich will hier hervorheben, daß wir die freiwerdenden Säuren (resp. Basen) nicht als echte Stoffwechselprodukte betrachten können; ihre Anhäufung ist eine ganz nebensächliche, nur den Stoffwechsel begleitende Erscheinung und steht darum mit der Eignung, der betreffenden N-Verbindung, als N-Quelle zu dienen, in keinem direkten Zusammenhang.

Es kann sich also sogar ein im übrigen besonders geeigneter Nährstoff in unseren Kulturen durch einen ganz

1) Siehe zB. Pfeffer, Pflanzenphys. I, 375.

nebensächlichen Umstand als ein sehr schlechter erweisen. Umgekehrt haben wir auch gesehen, daß durch die Produktion Nährstoff beschleunigender Stoffe ein im übrigen schlechterer einiger (zB. NH_4Cl oder $(NH_4)_2H_4O_6C_4$) sich besser als ein im allgemeinen ausgezeichneter Nährstoff (wie zB. Pepton oder Asparagin) erweisen kann.

Die Produktion beschleunigender Stoffe steht aber, wie mir scheint, auch in keinem inneren Zusammenhang mit der chemischen Eignung der betreffenden Verbindungen als Nährstoffe.

Das gleiche gilt, wie ich glaube, nicht nur für die Nebenprodukte, sondern überhaupt für alle möglichen Stoffwechselprodukte. Wenn wir eine Wachstumserniedrigung durch die Anhäufung von Spaltungsprodukten einiger Glykoside, von Alkohol, von Oxalsäure, von Ammoniak (bei Peptonzerspaltung) usw. beobachten, so dürfen wir daraus noch nicht auf einen geringeren Nährwert der dargebotenen Verbindungen schließen.

Die Eignung eines Stoffes als solche müssen wir als eine Funktion seiner chemischen Natur und der spezifischen physiologischen Eigenschaften des zu ernährenden Organismus, oder vielleicht sogar seiner Entwicklungsstadien, betrachten.

Nur aus dieser „Eignung als solcher“ dürfen wir vielleicht einige allgemeine Schlüsse über die in dem Organismusverlaufenden Synthesen ziehen.

Wenn wir in unseren Versuchen die für den Organismus schädlichen oder günstigen Einflüsse der Stoffwechselprodukte nicht berücksichtigen und beseitigen, so wird die gefundene Eignung, je nachdem, kleiner oder größer als die echte ausfallen.

Da aber die Stoffwechselprodukte und ihre Wirkungen, abhängig von den Ernährungsbedingungen, ganz verschieden sein können, so dürfen wir unsere Resultate nicht miteinander vergleichen, ebenso wie wir zB. die Resultate von zwei Kulturen auf Zucker, bei welchen die eine mit kleinen Zn- oder Mn-Zugaben, die andere ohne solche, aber mit Zusatz einer schädlichen Dosis irgend eines Giftes ($HgCl_2$ oder auch Zn bezw. Mn) angestellt ist, in bezug auf die Eignung des Zuckers nicht vergleichen können. Alles dies zeigt uns nochmals, wie vorsichtig wir bei allen unseren Versuchen und weiteren Spekulationen über den Zusammenhang zwischen dem Nährwert und den chemischen Eigenschaften und der Konstitution verschiedener Verbindungen sein müssen.

Wir dürfen vielleicht sogar sagen, daß eine exakte experimentelle Lösung dieser Frage zur Zeit noch ganz unmöglich ist; erst müssen wir in jedem einzelnen Fall die Stoffwechsel- bezw. Nebenprodukte und deren Einfluß kennen und diesen Einfluß zu beseitigen lernen.

Dann bleiben uns noch die schon von Nägeli[1]) hervorgehobenen Schwierigkeiten, welche auf solche für die Eignungsfrage auch prinzipiell nebensächlichen Eigenschaften der Körper, wie zB. Giftigkeit[2]) oder Unlöslichkeit, basieren, zu umgehen.

Die durch die Stoffwechselprodukte bedingten Schwierigkeiten beziehen sich übrigens nur auf eine vergleichende Untersuchung der Ernährungsfähigkeit einer Reihe von Verbindungen, mittels der auf denselben erzeugten Pilzgewichte[3]). Wenn wir aber bei der Beurteilung der Nährfähigkeit nur die Entwicklung oder Nichtentwicklung[4]), also ein viel gröberes Kriterium, annehmen, so kann hier von einem Einfluß von Produkten öfters gar keine Rede sein. Hier müssen aber, den groben Eigenschaften der Methode entsprechend, auch die Resultate und die auf denselben basierenden Schlüsse gröber sein.

V. Über die gegenseitige Beeinflussung verschiedener Mikroorganismen durch ihre Stoffwechselprodukte.

Dieses Gebiet[5]) unserer biologisch-physiologischen Kenntnisse ist einerseits schon seinem Wesen nach sehr schwierig und kompliziert, anderseits ist es aber bis jetzt noch sehr wenig untersucht[6]).

Nach der Entdeckung der Züchtung in Reinkultur beschäftigte sich die wissenschaftliche Mikrobiologie fast ausnahmslos mit Reinkulturen und hatte bis jetzt fast keine Zeit, ihre Aufmerksamkeit der Erforschung der unendlich mannigfaltigen mutualistischen und antagonistischen Verhältnisse zuzuwenden, welche sich zwischen den einzelnen Organismen bei ihrem Zusammentreten abspielen können.

1) Botan. Mittl. III, 397; Unters. üb. nied. Pilze usw., p. 2.

2) Vergl. Pfeffer, Pflanzenphys. I, 373.

3) Wie z. B. bei Czapek, Beitr. zur chem. Phys. und Pathol. Zeitschr. f. d. Gesamtbiochemie, 1902, oder auch bei vielen Versuchen von Nägeli, l. c.

4) Wie z. B. bei Reinke, Untersuch. a. d. B. Labor. zu Göttingen, 1879. Stud. üb. d. Protoplasma. 2. Folge, oder auch bei vielen Versuchen von Nägeli, l. c.

5) Vergl. Pfeffer, Pflanzenphysiol. I, 515; Duclaux, Trait. d. microb., IV, chapitr. 36. Siehe auch Nägeli, Bot. Mittl. III, 205.

6) Experimentell.

Wir müssen uns bis jetzt meist nur mit vereinzelten, oft zufälligen Beobachtungen und Bemerkungen begnügen.

Es ist ganz klar, daß die Schwierigkeit der Untersuchung mit der Zahl der zusammen zu untersuchenden Spezies sehr schnell wächst.

Bei diesem Anlaß sagt Duclaux[1]): „C'est une autre science à créer presque de toutes pièces et un nouvel étage de l'édifice de la microbiologie."

Ich will hier nicht alle Versuche[2]), die von mir in dieser Richtung angestellt wurden, mitteilen, sondern nur einige allgemeine Schlüsse, die sich daraus ziehen lassen.

Alle diese Versuche kann man in zwei Kategorien ordnen. Erstens versuchte ich nach der Kultur einer Pilzart in derselben Kulturflüssigkeit eine andere Art zu kultivieren, zweitens zwei verschiedene Arten in einer Kultur gleichzeitig (in Mischkulturen) zu ziehen.

Sämtliche Versuche der ersten Gruppe[3]) gaben Resultate, die im wesentlichen mit jenen für die einzelnen Spezies vollständig übereinstimmen. Wir finden also, je nach der N-Quelle (alle diese Versuche wurden nur mit Zucker als C-Quelle angestellt), entweder Sistierung oder Beschleunigung der Pilzentwicklung. Erstere beobachten wir zB. mit Ammoniaksalzen der anorganischen Säuren; sie beruht immer auf einer Aziditätserhöhung, nach der Neutralisierung tritt wieder ein ganz gutes Wachstum des Pilzes ein und sogar ein besseres als gewöhnlich. Dabei spielen in allen diesen

1) Ebenda IV, 747.

2) Sie sind auch in den Tabellen nicht angeführt.

3) In diesen Versuchen wurden auch einige Bakterienarten in bezug auf den Einfluss ihrer Produkte auf sich selbst, aufeinander und auch auf Schimmelpilze und Saccharomyceten untersucht (*Microc. prodigiosus* = *Bac. prodigiosus*; *Bac. typhi murium*, *Bac. pyocyaneus*, *Sacchar. roseus*, *S. cerevisia* und alle unsere Schimmelpilze in den verschiedensten Kombinationen). Die Kulturen der Bakterien wurden in großen Kolben (1 l Substrat) mit Zucker und Pepton, resp. NH_4NO_3 angestellt; nach der Kultur fand Zusatz von Nährstoffen, Filtration durch Chamberlandsche Filter und sterile Verteilung des Filtrats (mittels besonderer Einrichtungen des Filtrationsapparats) in viele Erlenmeyersche Kölbchen statt. Darauf folgte die Impfung mit verschiedenen Organismen. Auch hier läßt sich entweder Beschleunigung der Entwicklung oder Hemmung nachweisen; letztere ist wieder durch Aziditäts- resp. Alkalinitäts-Erhöhung verursacht, worauf die Wirkung der Neutralisation hinweist. — Vergl. hier Nägeli, Untersuch. üb. die nied. Pilze usw., 1877, 31; Pfeffer, Pflanzenphys. I, 373; Pasteur, Ann. d. ch. et d. phys. 1858, III, s. B. 52, p. 415; Wassermann und Kolle, Handb. d. pathog. Mikroorgan. 1902, 1. Lief., 120—123; auch Duchesne (Thèse), Lyon 1897, Contrib. à l'étude de la concurrence vitale etc.

gegenseitigen Beeinflussungen durch die Aziditätserhöhung die Unterschiede inder Resistenzfähigkeit verschiedener Arten gegen die freien H-Ioneneine hervorragende und für die Resultate entscheidende Rolle. So zB. haben wir schon gesehen, daß *Aspergillus niger*, verglichen mit anderen Pilzen, die größte Azidität verträgt, weshalb er auch weiter in der Säureanhäufung gehen kann als die anderen. Darauf folgt *Asp. flavus* und *Penicillium griseum*, und in letzter Reihe kommen *Pen. glaucum*, *Mucor stolonifer*, *Saccharomyces rosaceus* und *Sacch. cerevisiae*.

Demgemäß entwickelt sich *Asp. niger* nach einigen sukzessiven Kulturen aller übrigen genannten Organismen nicht nur gut, sondern sogar gewöhnlich besonders üppig.

Dasselbe finden wir bei der Aussaat andersartiger Spezies in die Flüssigkeiten (mit schwachen Zuckerkonzentrationen), in welchen sich nur eine Kultur von *Aspergillus niger* entwickelt hatte [1]).

Nach einigen Kulturen von *Asp. niger* (oder nach einer mit höheren Zuckerkonzentrationen) wächst keine der untersuchten Spezies mehr.

Penicillium griseum wächst nach *Penic. glaucum* sehr üppig; nach einigen Kulturen von *Penic. griseum* wächst *Penic. glaucum* garnicht usw.

Als Beispiel für die beobachtete Beschleunigung will ich hier folgende Zahlen anführen [2]). Es wurde gefunden:

Mit	*Mucor stolonifer*	*Penicill. griseum*		*Asperg. flavus*	
		a	b	a	b
Nach der 1 *Asp. niger*-Kultur . .	0,420	0,869	0,862	0,927	0,785
Kontroll-Kultur . .	0,120—0,138	0,295—0,242	0,363	0,278—0,322	0,422

Mit	*Aspergillus niger*	*Penicill. griseum*	*Penicill. glaucum*	*Sacchar. rosaceus*
Nach der 1. *Sacchar. cerevisia*-Kultur	1,362	1,495	1,770	0,225
Kontroll-Kultur	0,300—0,450	—	0,400—0,720	0,090—0,095

1) also die Kulturflüssigkeit noch nicht sehr stark sauer geworden war.

2) Die erste Kultur in diesen Versuchen wurde mit 4% Zucker, 1% NH_4NO_3 (und Salzen) auf 50 ccm, bei 22tägiger Kulturdauer, angestellt; darauf fand ein Zusatz von 2 g Zucker (die ganze Menge des früher vorhandenen Zuckers war nach einer solchen Kulturdauer verschwunden) und eine Aussaat von Sporen andersartiger Pilze statt. Parallel wurden auch Kontrollkulturen angestellt.

Ähnliche Resultate ergaben alle die zahlreichen auf gleiche Weise angestellten Versuche.

Im allgemeinen gilt also: 1. Alle antagonistischen gegenseitigen Beeinflussungen der untersuchten Spezies unter den angeführten Kulturbedingungen lassen sich auf Aziditätsveränderungen zurückführen[1]. 2. Die Veränderungen in den Kulturflüssigkeiten, welche die Pilzentwicklung in späteren Kulturen befördern, sind für alle untersuchten Spezies gemeinsame und wahrscheinlich identische Erscheinungen.

Bei den gegenseitigen Beeinflussungen in den abwechselnden Reinkulturen können alle erwähnten Organismen, je nach den Kulturbedingungen, eine hemmende oder begünstigende Wirkung aufeinander ausüben.

Wir dürfen aber nie vergessen, daß diese Resultate mit abwechselnden Reinkulturen von den Konkurrenzverhältnissen in der Natur und sogar von denjenigen in Mischkulturen sehr weit entfernt sind.

Hier kommen zahlreiche andere Existenzbedingungen in Betracht, vor allem die relative Vermehrungsschnelligkeit[2], oft auch die Entfernung von Produkten[3], der Aggregatzustand des Substrats[4], rein physikalisches Hinausdrängen, direkter Parasitismus[5] oder innige symbiotische Verhältnisse usw. usw., was die genauere Kenntnis dieser Verhältnisse im höchsten Grade erschwert. Aus diesen Gründen haben auch alle unseren Versuche mit Mischkulturen[6] verschiedener Species keine interessanten, allgemeingültigen Resultate ergeben. Da die Pilze sich ganz verschieden z. B. gegen Temperaturbedingungen verhalten, so würde es hier für eine exakte Analyse aller Verhältnisse einer Unmenge von Ver-

---

1) Reinhardt (Jahrb. f. wiss. Botan., 1892, XXIII) hat die antagonistischen Beeinflussungen zwischen *Peziza*-Arten und *Aspergillus* beobachtet und neigt auch zu der Annahme, daß diese Beeinflussungen sich auf die Aziditätsveränderungen zurückführen lassen; er meint nämlich, daß hier die Oxalsäure die Hauptrolle spielt.

2) Vergl. z. B. Duclaux, Tr. d. microbiol. IV, 745—746; Nägeli, Botan. Mittl. III, 205; auch Duchesne, Contrib. à l'étude de la concurrence vitale chez les microorganismes. Thèse, Lyon 1897.

3) Vergl. Pfeffer, Pflanzenphys. I, 105, 107, für Phanerogamen 156, 436, 434, 435.

4) Vergl. Wehmer, Beitr. zur Kenntnis einheim. Pilze, 1893, I, 68.

5) Vergl. Wehmer, ebda.; Brefeld, Schimmelpilze I, 33—34; Reinhardt, l. c.

6) Literatur über Mischkulturen bei Wassermann und Kolbe, Handbuch der pathog. Mikroorgan. 1902, 1. Lief. 123. Duclaux, l. c., III.

suchen bei verschiedenen Temperaturen, verschiedenen Nahrungs- und anderen Kulturbedingungen bedürfen. Da aber in meiner Arbeit diese Frage nur eine Nebenfrage war, so konnte ich solche nicht unternehmen. Wie wichtig und entscheidend zB. die Temperaturbedingungen[1]) bei dieser Frage sind, zeigt auch folgender Versuch.

Es wurden vier ganz gleiche Kulturen mit gleichzeitiger Aussaat von *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*, aber bei verschiedenen Temperaturen (32—33° C., 25—26° C., 20° C., 15 bis 16° C.) angestellt. Bei den ersten drei fand gar keine Entwicklung von *Penicillium*, aber eine üppige von *Aspergillus niger* statt; bei den letzten dagegen entwickelte sich nur *Pen. glaucum.*

Wenn wir die optimalen, minimalen und maximalen Temperaturen für beide Pilzarten berücksichtigen[2]), so werden wir aber auch sehen, dass außer der Temperatur noch andere, unbekannte Bedingungen, welche die betreffenden Resultate bedingen, existieren müssen; sonst müßten wir bei 25—26° C., wo sich *Penicillium* unter optimalen Temperaturbedingungen befindet, während *Aspergillus* von solchen noch weit entfernt ist, ein umgekehrtes Resultat erhalten.

Folgender Versuch zeigt uns, welch' eine große Bedeutung für die Konkurrenzresultate die Unterschiede in den Aussaatzeiten haben.

Vier Kolben mit je 50 ccm Lösung, 5% Zucker, 2% Pepton und allen Salzen, wurden geimpft:

Mit *Saccharom. cerevisiae* am	12.	11.	10.	10. Januar
„ *Penicill. glaucum* „	10.	10.	10.	11. „
Entwicklung am 16. Januar — *Sacchar. cer.*		+	++	+++
Entwicklung am 16. Januar — *Penic. glauc.*	+++	+++	++	
Trockengew. v. *Penic. gl.* 18. Jan.	0,432 g	0,380 g	0,245 g	unwägbar

VI. Resumé.

1. Unter allen untersuchten Ernährungsbedingungen ruft die Schimmelpilzkultur in der Kulturflüssigkeit einige nicht näher be-

1) Siehe zB. für *Saccharomyces*-Arten Duclaux, l. c. III, 649, da auch Literaturangaben.

2) Optimum: *Penic. glaucum* 25—27° C.; *Asperg. niger* 33—37° C. Vergl. Pfeffer, Pflanzenphys. II, 87; Flügge, Die Mikroorganismen, 1896, I, 132.

kannte Veränderungen hervor, die auf die späteren Kulturen eine befördernde Wirkung ausüben.

2. Unter gewissen Ernährungsbedingungen ist diese befördernde Wirkung durch andere, entgegengesetzte Beeinflussungen verdeckt (zB. durch H- resp. OH-Ionenanhäufung bei N-Konsum aus den Ammonsalzen der anorganischen Säuren, resp. bei Peptonzerspaltung usw.). Nach der Beseitigung der verdeckenden Ursachen tritt die erwähnte Beförderung wieder hervor.

3. Eine hemmende Wirkung in unseren gewöhnlich gebrauchten Nährmedien (Zucker, Glyzerin usw. als C-Quelle und Ammonsalze der anorganischen Säuren als N-Quelle) kann nur durch eine Aziditätserhöhung hervorgerufen werden; diese Azidität kann entweder durch die bei N-Konsum disponibel werdende anorganische Säure oder durch eine Anhäufung der freien Oxalsäure verursacht werden.

4. Unter allen untersuchten Ernährungsbedingungen liefert nur die Zerspaltung von Glykosiden einige schädliche Produkte, die nicht durch ihre H- resp. OH-Ionen wirken.

5. Alle gegenseitigen Beeinflussungen der untersuchten Spezies in den aufeinander folgenden Reinkulturen sind einerseits durch eine beschleunigende Wirkung von unbekannten Produkten, anderseits durch die Anhäufung von H- resp. OH-Ionen und durch die Empfindlichkeit der betreffenden Arten gegen diese bedingt.

VII. Tabellarische Beilage.

Einige Erklärungen zu den Tabellen.

Überall, wo die Nährstoffzusätze nach der Kultur garnicht angegeben sind, fand ein Zusatz von 5 ccm Lös. A[1]) bei 100 ccm der Kulturflüssigkeit und 2,5 ccm Lös. A bei 50 ccm der Kulturflüssigkeit statt.

Überall, wo nur die C-Quelle-Zusätze angegeben sind, fand ein Zusatz von 5 ccm Lös. B[1]) (bei 100 ccm) oder 2,5 ccm Lös. B (bei 50 ccm) statt.

Überall, wo die Zusätze von C- und N-Quellen angegeben sind, fand ein Zusatz von 5 ccm (bei 100 ccm) resp. 2,5 ccm (bei 50 ccm) von Lös. C[1]) statt.

1) Vergl. p. 3.

Vers. I.

Aspergillus niger. Zucker-Ammonnitrat; Einfluß der Konzentration der Nährstoffe. Vol. = 50 ccm; Temp. = 25—26° C.

No. des Kolbens	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Konzentrat. d. Nährstoffe	$\frac{N}{2}$	N [1])	2 N	3 N	4 N	5 N	6 N	7 N	8 N	9 N	10 N	2 N	5 N	10 N	5 N	10 N
Zusatz v. 5proz. Eisenchloridlös. Tropfen:	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	4	10	20	2	2
Reaktion	S.	S.	S.	S.	S.	S.	S.	S.	S.	S.	S.	N.	N.	N	S.	S.
1. Kult. (16 Tage). Erntegewicht . . . . . . g	0,227	0,392	0,713	1,016	1,430	2,053	2,115	2,166	2,010	1,920	1,815	0,870	1,218	1,595	0,760	2,135
Zusatz von Nährstoffen	kein	kein	kein	kein	kein	kein	kein	kein	kein	kein	kein	kein	kein	kein	kein	kein
2. Kult. (14 Tage). Pilzentwicklung	— [2])	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Volum der Kulturflüssigkeit . . . . ccm	38,5	37,5	36,0	34,0	33,0	33,5	32,0	29,8	33,0	34,6	35,2	35,2	34,5	30,0	31,0	27,8
Beobacht. Drehg. (l = 1) °	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,83	2,75	4,40	6,00	7,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Zuckergehalt . . . . . %	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,48	5,23	8,36	11,41	13,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Zusatz: Lös. A . . ccm	2,5	2,5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Zusatz v. Sodalösung bis:	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	kein	neutr.	neutr.	kein	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.
3. Kult. (7 Tage). Pilzentwicklung	++	++	++	++	++	—	+++	+++	—	+++	++	++	++	++	++	++

1) Durch N ist folgende Konzentration der Nährstoffe bezeichnet: Zucker 4 ‰, NH_4NO_3 1 ‰, KH_2PO_4 0,5 ‰, $MgSO_4$ 0,25 ‰, KCl 0,05 ‰. 3 N enthält also zB. 12 % Zucker, 3 % NH_4NO_3, 1,5 % KH_2PO_4, 0,75 % $MgSO_4$ und 0,15 % KCl.

2) — keine Entwicklung, + schwache, ++ gute und +++ sehr gute Entwicklung.

Vers. II.

Aspergillus niger. Zucker und NH_4NO_3; Einfluß der Konzentration von NH_4NO_3 und von Salzen; Einfluß der Reaktion; Vol. = 50 ccm; Temp. = 25—26° C.

Konzentration von NH_4NO_3 und Nährsalzen	N [1]		7 N		10 N		N		10 N	
Zuckergehalt %	20	20	20	20	20	20	3	3	3	3
Reaktion der Flüssigkeit auf Lackmus	S.	N.	S.	N.	S.	N.	S.	N.	S.	N.
1. Kult. (12 T.). Erntegew. g	1,056	0,778	1,229	0,992	0,903	0,595	0,412	0,488	0,352	0,363
Reaktion nach der Kultur .	S.	S.	S.	S.	S.	S.	S.	S.	S.	S.
Volum d. Kulturflüssigk. ccm	31,5	36,5	35,0	36,5	35,0	39,0	38,0	38,0	37,0	37,5
Zusatz: a) Zucker . . . . g	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
b) Lös. B . . . ccm	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
2. Kult. (12 T.). Erntegew. g	0,796	1,318	0,534	1,966	0,978	1,893	0,241	0,568	0,263	0,416
Volum d. Kulturflüssigk. ccm	27,0	28,5	28,5	26,5	27,0	28,0	32,5	33,0	33,0	33,0
Zusatz: a) Zucker . . . . g	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
b) Lös. B . . . ccm	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
3. Kult. (20 Tage). Pilzentwicklung	—	++	—	++	—	+	++	++	++	++
(6 Mon.) Pilzentwicklg.	—	++	—	++	—	+	++	++	++	++
pro 10 ccm $\frac{N}{1}$ NaOH-Lösung verbraucht	1,30	1,30	1,60	?	1,00	?	?	?	?	?
An HNO_3 berechnet . . %	0,819	0,819	1,008	?	0,630	?	?	?	?	?
Oxalsäure	keine	Spuren	keine	keine	Spuren	Spuren	?	?	?	?

Vers. III u. IV.

Aspergillus niger mit Zucker und Glyzerin als C-Quelle (verschied. Konzentrat.) und mit NH_4NO_3 als N-Quelle (1%); Volum = 50 ccm; Temp. = 25—26° C.

No. der Kolben	1	2	3	4	5	6	7	8
Zuckergehalt %	1,0	2,5	5,0	10,0	20,0	30,0	40,0	50,0
1. Kult. (16 Tage). Erntegew. g	0,135	0,270	0,460	0,880	1,275	1,948	2,525	2,495
Zusatz v. Zucker nach d. Kult. g	0,5	1	1	1	1	1	1	1
2. Kult. (16 Tage). Erntegew. g	0,110	0,182	0,217	0,275	0,275	unwägb.	0,000	0,000
Zusatz von Marmorpulver . . g	beendet	beendet	beendet	beendet	beendet	2	2	2
3. Kult. (7 Tage). Pilzentwicklg.						++	+++	+++
Glyzeringehalt %	1,0	2,5	5,0	10,0	20,0	30,0	40,0	50,0
1. Kult. (16 Tage). Erntegew. g	0,180	0,352	0,630	1,192	1,670	1,150	0,700	0,088
Zusatz v. Glyzerin nach d. Kult. g	0,5	1	1	1	1	1	1	1
2. Kult. (16 Tage). Erntegew. g	0,170	0,200	0,250	0,260	0,000	unwägb.	0,130	0,000
Zusatz von Marmorpulver . . g	beendet	beendet	beendet	beendet	2	2	2	2
3. Kult. (7 Tage). Pilzentwicklg.					+++	+++	++	+

1) Als N ist folg. Concentr. bez.: NH_4NO_3 0,77%, KH_2PO_4 0,38%, $MgSO_4$ 0,19%, KCl 0,038%.

Vers. V.

Aspergillus niger bei schwacher Zuckerkonzentration mit NH_4NO_3 als N-Quelle.

Temp. = 25—26° C.

	Sterilisierung bei 100° C. Verändertes Volum					Sterilisierung bei 100° C. Konstantes Volum.							Ohne Sterilisierung				
		N 1		N 2			N 3		N 4		N 5			N 6		N 7	
	Kulturdauer Tage	Lfd. Volumen ccm	Erntegewichte g	Lfd. Volumen ccm	Erntegewichte g	Kulturdauer Tage	Lfd. Volumen ccm	Erntegewichte g	Lfd. Volumen ccm	Erntegewichte g	Lfd. Volumen ccm	Erntegewichte g	Kulturdauer Tage	Lfd. Volumen ccm	Erntegewichte g	Lfd. Volumen ccm	Erntegewichte g
Anfangsvolumen		50		50			100		100		50			50		50	
1. Kultur	11		0,461		0,468	8	90	0,598	87	0,844	42	0,309	11		0,539		0,514
2. „	9		0,518		0,520	9	88,5	0,954	89	0,903	44	0,469	12		0,265		0,169
3. „	10	32,0	0,350	32	0,370	9	89	0,588	90,5	0,514	44	0,283	9		0,432		0,321
4. „	9	28,5	0,212	28,5	0,230	9	92	0,538	92	0,510	44	0,185	9		0,100		0,135
5. „	9	26,0	0,227	25	0,225	10	91,5	0,380	91,5	0,362	44	0,191	10		0,277		0,235
6. „	10	23,0	0,299	21	0,267	11	91	0,398	91	0,348	44,5	0,182	10		0,217		0,240
7. „	11	20,0	0,155	19	0,042	90	90	0,247	89,5	0,242	42,5	0,130	10		0,197		0,103
8. „	90	17,0	0,131		verloren	9	91	0,310	92	0,334	44,5	0,145	10		0,220		0,192
9. „	10	17,5	**0,000** [1])			10	90	0,330	90	0,325	43,5	0,143	11		0,195		0,194
10. „	10	12,5	0,243			12	91	0,328	91,5	0,334	43	0,153	10	21	0,200	23	0,125
11. „	12	8,0	0,172			12	88	0,277	90	0,275	40	0,145			beendet		beendet
12. „	12	5,0	0,202			12	88	0,440	88	0,435	42	0,242					
13. „	12	5,0	**0,000** [1])			13	88	0,448	90	0,460	42,5	0,190					
14. „	13	2,5	0,250			14	90	0,400	90	0,525	43	0,165					
15. „	20		0,000			16	92	0,605	90	0,645	42,5	0,285					
16. „			beendet			30	85	0,645	92	0,657	44	0,220					

Nach jeder Kultur fand ein Zusatz von je 2,5 ccm Lös. A zu der Kulturflüssigkeit der Kolben No. 1, 2, 5, 6, 7 und von je 5 ccm Lös. A zu der der Kolben No. 3 und 4 statt.

---

1) Nach diesen Kulturen (9. und 13.) wurde die Kulturflüssigkeit mit NaOH-Lösung mit Methyl-Orange als Indicator neutralisiert.

Vers. VI.

Aspergillus niger mit NH_4Cl und NH_4NO_3 als N-Quelle und mit Zucker und Glyzerin als C-Quelle. Volum = 50 ccm; Temp. = 25—26° C.; NH_4Cl 1%; NH_4NO_3 1,495%.

C-Quelle	2,5% Glyzerin			4% Traubenzucker			20% Glyzerin			32% Traubenzucker		
N-Quelle	NH_4NO_3	NH_4Cl		NH_4NO_3	NH_4Cl		NH_4NO_3	NH_4Cl		NH_4NO_3	NH_4Cl	
No. der Kolben	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Kultur (16 Tage).												
Erntegewicht . . g	0,380	0,395	0,382	0,422	0,457	0,466	1,927	1,855	1,740	1,700	1,447	1,510
Volum d. Kulturflüssigkeit . . . . . . ccm	40,0	38,0	40,0	37,5	38,0	38,0	39,0	37,5	38,0	32,5	36,0	35,0
Zusatz: a) C-Quelle g	1,25	1,25	1,25	2,0	2,0	2,0	5,0	5,0	5,0	2,0	2,0	2,0
b) N-Quelle g	0,37	0,25	0,25	0,37	0,25	0,25	0,37	0,25	0,25	0,37	0,25	0,25
2. Kultur (14 Tage).												
Erntegewicht . . g	0,345	0,420	0,405	0,510	0,700	0,653	0,000	0,000	0,000	0,750	0,000	0,000
Volum d. Kulturflüssigkeit . . . . . . ccm	35,0	32,5	34,5	32,0	29,0	30,5	41,0	41,5	41,0	28,0	35,0	35,5
Pro 10 ccm $\frac{N}{1}$ NaOH-Lös. verbraucht a)	—	—	—	—	—	—	0,85	1,10	1,20	—	1,5	1,6
b)	—	—	—	—	—	—	0,85	1,10	1,10	—	1,5	1,45
Oxalsäure	—	—	—	—	—	—	Spuren	keine	keine	—	keine	keine
auf die entspr. Säure berechnet . . %	—	—	—	—	—	—	0,535	0,402	0,438	—	0,547	0,584
Zusatz: a) C-Quelle g	1,25	1,25	1,25	2,0	2,0	2,0	kein	kein	kein	4,0	kein	kein
b) N-Quelle g	0,37	0,25	0,25	0,37	0,25	0,25	kein	kein	kein	0,37	kein	kein
Neutralisiert od. nicht	nicht	nicht	nicht	nicht	nicht	nicht	ja	ja	ja	nicht	ja	ja
3. Kultur (14 Tage).												
Erntegewicht . . g	0,362	0,245	0,382	0,416	0,000	0,000	1,395	1,425	0,830	0,000	0,915	1,330
Volum d. Kulturflüssigkeit . . . . . . ccm	29,0	26,0	28,0	30,0	27,5	28,0	12,0	27,0	27,0	27,5	20,0	22
Pro 10 ccm $\frac{N}{1}$ NaOH-Lös. verbraucht a)	—	—	—	—	1,05	1,20	—	—	—	2,0	—	—
b)	—	—	—	—	1,00	1,15	—	—	—	1,8	—	—
Auf die entspr. Säure berechnet . . . . %	—	—	—	—	0,383	0,438	—	—	—	1,260	—	—
Zusatz: a) C-Quelle g	1,25	1,25	1,25	2,0	kein	kein	5,0	5,0	5,0	kein	4,0	4,0
b) N-Quelle g	0,37	0,25	0,25	0,37	kein	kein	0,37	0,25	0,25	kein	0,25	0,25
Neutralisiert od. nicht	nicht	nicht	nicht	nicht	ja	ja	nicht	nicht	nicht	ja	nicht	nicht
4. Kultur (6 Tage).												
Erntegewicht . . g	0,400	0,082	0,124	0,442	0,398	0,412	0,256	0,000	0,000	0,936	0,000	0,000
Zusatz: b) C-Quelle g	1,25	1,25	1,25	2,0	2,0	2,0	5,0	beendet	beendet	4,0	beendet	beendet
b) N-Quelle g	0,37	0,25	0,25	0,37	0,25	0,25	0,37			0,37		
5. Kultur (14 Tage).												
Erntegewicht . . g	0,375	0,000	0,000	0,392	0,430	0,345	0,000			0,000		

Vers. VII.

Aspergillus niger mit NH_4Cl, NH_4NO_3 und $(NH_4)_2SO_4$ als N-Quelle und Zucker und Glyzerin. Vol. = 50 ccm; Temp. = 25—26°.

C-Quelle	20% Glyzerin			32% Zucker		
N-Quelle	1,495% NH_4NO_3	1% NH_4Cl	1,234% $(NH_4)_2SO_4$	1,495% NH_4NO_3	1% NH_4Cl	1,234% $(NH_4)_2SO_4$
No. der Kolben	1	2	3	4	5	6
1. Kultur (14 Tage). Erntegewicht . . . . . g	0,761	1,838	1,844	1,647	1,757	1,680
Volum d. Kulturflüssigk. ccm	32,0	34,0	33,0	26,0	31,0	27,0
Zusatz nach der Kultur:						
a) C-Quelle g	5	5	5	8	8	8
b) N-Quelle g	0,37	0,25	0,31	0,37	0,25	0,31
2. Kultur (12 Tage). Erntegewicht . . . . . g	1,317	**0,000**	1,095	1,270	**0,000**	0,810
Volum d. Kulturflüssigk. ccm	22,0	32,5	22,0	19,0	31,5	20,0
Pro 10 ccm $\frac{N}{1}$ Na OH-Lösung verbraucht ccm:						
a) mit Methylorange } als	—	1,05	—	—	1,40	—
b) mit Methylviolett } Indic.	—	1,00	—	—	1,40	—
Auf die entsprechende Säure berechnet . . . . %	—	0,383	—	—	0,511	—
Zusatz nach der Kultur:						
a) C-Quelle g	5	kein	5	4	kein	4
b) N-Quelle g	0,37	kein	0,31	0,37	kein	0,31
Neutralisiert oder nicht .	nicht	ja	nicht	nicht	ja	nicht
3. Kultur (3 Mon.). Erntegewicht . . . . . g	0,465 [1])	1,112	**0,000**	**0,000**	1,700	**0,000**
Volum d. Kulturflüssigk. ccm	17,0	25,0	19,0	18,5	23,5	19,0
Pro 10 ccm $\frac{N}{1}$ Na OH-Lösung verbraucht ccm:						
a) mit Methylorange } als	1,00	1,60	2,20	1,60	1,50	2,70
b) mit Methylviolett } Indic.	1,00	1,50	2,10	1,50	1,50	2,75
Auf die entsprechende Säure berechnet . . . . %	0,626	0,584	1,078 [2])	1,008	0,548	1,323 [2])
Nach d. Versuchsschl. $C_2H_2O_4$ als $CaC_2O_4 \cdot H_2O$ gefdn. g	0,016	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000

1) Nach der Titrierung und $C_2H_2O_4$-Bestimmung wurden zu dem Reste dieser Kulturflüssigkeit 2 g Zucker und 0,3 g NH_4NO_3 hinzugefügt, und nach 10 Tagen wurde gar keine Pilzentwicklung beobachtet; also ist diese Ernte die letzte und die entsprechende Azidität ist die Grenzazidität.

2) $^1/_2$ H_2SO_4.

Vers. VIII.

Penicillium glaucum und *P. griseum*. NH_4Cl, NH_4NO_3 und $(NH_4)_2C_6H_6O_7$ als N-Quelle. Vol. = 50 ccm; Temp. = 22—23° C.; Rohrzucker 5%; Kulturdauer 20—22 Tage.

Pilzart	*Penicillium griseum*			*Penicillium glaucum*		
Zuckergehalt	5	5	5	5	5	5
N-Quelle	1% NH_4Cl	1,495% NH_4NO_3	2,110% $(NH_4)_2C_6H_6O_7$	1% NH_4Cl	1,495% NH_4NO_3	2,110% $(NH_4)_2C_6H_6O_7$
1. Kult. (22 T.). Erntegew. g	*0,605*	*0,350*	*0,350*	*0,678*	*0,455*	*0,688*
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . ccm	41,0	42,0	43,0	41,5	42,0	40,5
Zusatz nach der Kultur:						
a) Zucker g	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
b) N-Quelle g	0,500	0,748	1,050	0,500	0,748	1,050
2. Kult. (20 T.). Erntegew. g	*0,000*[1]	*0,445*	*0,735*	*0,062*	*0,480*	*0,810*
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . ccm	?	?	33,0	?	?	29,0
Zusatz nach der Kultur:						
a) Zucker g	0,0	2,5	2,5	0,0	2,5	2,5
b) N-Quelle g	0,000	0,748	1,050	0,000	0,748	1,050
3. Kult. (20 T.). Erntegew. g	**0,000**	**0,000**	*0,455*	**0,000**	**0,000**	*0,545*
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . ccm	39,0	36,0	30,0	43,5	36,0	25,5
Pro 10 ccm $\frac{N}{1}$ NaOH-Lösung verbraucht ccm:						
a) mit Methylorange } als	1,00	0,70	—	0,40	0,25	—
b) mit Methylviolett } Indic.	1,00	0,60	—	0,40	0,25	—
Auf die entspr. Säure ber. %	0,365	0,441	—	0,146	0,157	—
Zusatz nach der Kultur:						
a) Zucker g	—	—	2,5	—	—	2,5
b) N-Quelle g	—	—	1,050	—	—	1,050
Neutralis. m. NaOH-Lös. (m. Methylorange a. I.) od. nicht	ja	ja	nicht	ja	ja	nicht
4. Kult. (21 T.). Erntegew. g	*0,365*	*0,525*	*0,522*	*0,452*	*0,305*	*0,510*
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . ccm	24,0	20,5	28,5	27,0	20,0	23,5
Pro 10 ccm $\frac{N}{1}$ NaOH-Lösung verbraucht ccm:						
a) mit Methylorange } als	0,75	0,90	—	0,30	0,20	—
b) mit Methylviolett } Indic.	0,75	0,80	—	0,30	0,20	—
Auf die entspr. Säure ber. %	0,274	0,441	—	0,109	0,126	—
Grenzerntegewicht[2]	0,605	0,795	> 2,062	0,740	0,935	> 2,553

1) Unwägbar.

2) Das summarische Gewicht, das wir ohne Neutralisation zu bekommen imstande sind.

Vers. IX.

Aspergillus niger, *Penicillium glaucum* und *Saccharomyces rosaceus* mit Ammonoxalat als N-Quelle. Traubenzucker 4%; Vol. = 50 ccm; Temp. 22—23° C.; nach jeder Kultur fand ein Zusatz von 2 g Zucker und 0,5 g Ammonoxalat statt.

Pilzart		*Asperg. niger*		*Penic. glauc.*		*Sacch. rosac.*	
Gehalt an Ammonoxalat	%	1	2	1	2	1	2
1. Kultur (12 Tage). Erntegewicht	g	0,420	0,420	0,625	0,483	0,182	0,159
2. „ (14 „). „	g	0,415	0,385	0,315	0,298	0,052	0,034
Volum der Kulturflüssigkeit	ccm	32,0	32,5	37,5	36,5	?	?
3. Kultur (12 Tage). Erntegewicht	g	0,402	0,411	0,523	0,462	?	0,015

Vers. X.

Aspergillus niger. NH_4Cl und $(NH_4)_2C_4H_4O_6$ als N-Quelle bei gleichzeitiger Darbietung. Vol. = 50 ccm; Temp. = 25—26° C.; Kulturdauer 11—13 Tage. Glyzerin als C-Quelle.

Glyzeringehalt	%	20					
NH_4Cl-Gehalt	%	—	1	1	1	1	1
$(NH_4)_2C_4H_4O_6$-Gehalt	%	6,88	—	0,86	1,72	3,44	6,88
1. Kultur (12 Tage). Erntegewicht	g	1,800	0,675	1,170	1,020	1,085	1,310
Volum der Kulturflüssigkeit . .	ccm	35,0	36,0	35,0	37,5	41,0	36,5
Zusatz nach der Kultur:							
a) Glyzerin	g	5	5	5	5	5	5
b) NH_4Cl	g	—	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
c) $(NH_4)_2C_4H_4O_6$	g	3,44	—	0,43	0,86	1,72	3,44
2. Kultur (11 Tage). Erntegewicht	g	1,660	1,065	2,325	2,525	2,660	1,950
Volum der Kulturflüssigkeit . .	ccm	—	—	—	—	—	—
Zusatz nach der Kultur:							
a) Glyzerin	g	5	5	5	5	5	5
b) NH_4Cl	g	—	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
c) $(NH_4)_2C_4H_4O_6$	g	3,44	—	0,43	0,86	1,72	3,44
3. Kultur (12 Tage). Erntegewicht	g	1,415	0,000	1,592	0,285	1,550	1,425
Volum der Kulturflüssigkeit . .	ccm	16,0	36,0	24,5	29,0	26,0	20,0
Zusatz nach der Kultur:							
a) Glyzerin	g	5	—	5	5	5	5
b) Wasser	ccm	16,0	14,0	8,5	5,0	7,0	12,5
Neue Volumen	ccm	36,0	50,0	36,0	36,0	36,0	36,0
4. Kultur (13 Tage). Erntegewicht	g	1,420	0,000	0,182	0,380	1,182	1,330
Volum der Kulturflüssigkeit . .	ccm	27,0	?—	30,0	30,0	27,5	28,5

Vers. XI.

Penicillium glaucum und *P. griseum*. NH_4Cl, NH_4NO_3 und $(NH_4)_2C_4H_4O_6$ als N-Quelle.
Vol. = 50 ccm; Temp. = 22—23° C.; Rohrzucker 5%; Kulturdauer 20—22 Tage.

Pilzart	*Penicillium griseum*			*Penicillium glaucum*		
Zuckergehalt %	5	5	5	5	5	5
N-Quelle	1% NH_4Cl	1,495% NH_4NO_3	2,110% $(NH_4)_2C_4H_4O_6$	1% NH_4Cl	1,495% NH_4NO_3	2,110% $(NH_4)_2C_4H_4O_6$
1. Kult. (22 T.). Erntegew. g	0,605	0,350	0,350	0,678	0,455	0,688
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . ccm	41,0	42,0	43,0	41,5	42,0	40,5
Zusatz nach der Kultur:						
a) Zucker g	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
b) N-Quelle g	0,500	0,748	1,050	0,500	0,748	1,050
2. Kult. (20 T.). Erntegew. g	0,000	0,445	0,735	0,062	0,480	0,810
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . ccm	?	?	33,0	?	?	29,0
Zusatz nach der Kultur:						
a) Zucker g	0,0	0,0	2,5	0,0	0,0	2,5
b) N-Quelle g	0,000	0,000	1,050	0,000	0,000	1,050
3. Kult. (20 T.). Erntegew. g	0,000	0,000	0,455	0,000	0,000	0,545
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . ccm	39,0	36,0	30,0	43,5	36,0	25,5
Pro 10 ccm $\frac{N}{1}$ NaOH-Lösung verbraucht ccm:						
a) mit Methylorange } als	1,00	0,70	—	0,40	0,25	—
b) mit Methylviolett } Indic.	1,00	0,60	—	0,40	0,25	—
Auf die entspr. Säure ber. %	0,365	0,441	—	0,146	0,157	—
Zusatz nach der Kultur:						
a) Zucker g	kein	kein	2,5	kein	kein	2,5
b) N-Quelle g	kein	kein	1,050	kein	kein	1,050
Neutralis. m. NaOH-Lös. (m. Methylorange a. I.) od. nicht	ja	ja	nicht	ja	ja	nicht
4. Kult. (21 T.). Erntegew. g	0,365	0,525	0,522	0,452	0,305	0,510
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . ccm	24,0	20,5	28,5	27,0	20,0	23,5
Pro 10 ccm $\frac{N}{1}$ NaOH-Lösung verbraucht ccm:						
a) mit Methylorange } als	0,75	0,90	—	0,30	0,20	—
b) mit Methylviolett } Indic.	0,75	0,80	—	0,30	0,20	—
Auf die entspr. Säure ber. %	0,274	0,441	—	0,109	0,126	—
Grenzerntegewicht[1])	0,605	0,795	> 2,062	0,740	0,935	> 2,553

1) Das summarische Gewicht, das wir ohne Neutralisation zu bekommen imstande sind.

Vers. XII.

Aspergillus niger, Penicillium glaucum und *Penic. griseum.* KNO_3 als N-Quelle (1 %). Zucker 5 %; Vol. = 50 ccm; Temp. = 22—23° C. Nach jeder Kultur fand ein Zusatz von {5 g Zucker / 0,5 g KNO_3} statt.

Pilzart		*Asperg. niger*		*Penic. glauc.*		*Penic. gris.*	
		a	b	a	b	a	b
1. Kultur (15 Tage). Erntegewicht	g	0,185	0,195	0,305	0,285	0,105	0,115
2. „ (16 „). „	g	0,760	0,810	1,130	1,022	0,395	0,475
3. „ (14 „). „	g	1,095	1,192	1,562	1,505	0,500	0,365
4. „ (18 „). „	g	0,295	0,195	0,863	0,855	0,431	0,342
5. „ (18 „). „	g	0,300	0,280	0,025	0,352	0,255	0,130
6. „ (18 „). „	g	0,000	0,112	0,000	0,000	0,000	0,082
Reaktion mit Lackmus		sauer	sauer	sauer	sauer	sauer	sauer
Zusatz von Marmorpulver	g	2	2	2	2	2	2
7. Kultur. Pilzentwicklung		+++	+++	+++	+++	+++	+++

Vers. XIII.

Aspergillus niger mit Hippursäure als C-Quelle und NH_4NO_3 als N-Quelle und mit Hippursäure als N-Quelle (mit Zucker). Vol. = 50 ccm; Temp. = 25—26° C.

Gehalt an Hippursäure	%	1 [1]	2	5	3,35	3,35
Zuckergehalt	%	—	—	—	5	30
NH_4NO_3-Gehalt	%	1	1	1	—	—
1. Kultur (20 Tage). Erntegewicht . . .	g	0,087	0,130	? [2]	0,307	0,495
Ungelöste Hippursäure nach der Kultur geblieben		keine	keine	wenig	viel	viel
Zusatz nach der Kultur: a) Zucker . . .	g	—	—	—	2,5	2,5
b) Hippursäure .	g	0,5	1,0	2,5	—	—
2. Kultur (22 Tage). Erntegewicht . . .	g	0,025	0,100	0,078	0,675	0,168
Ungelöste Hippursäure nach der Kultur geblieben		keine	wenig	wenig	wenig	viel
Zusatz nach der Kultur: a) Zucker . . .	g	—	—	—	2,5	2,5
b) Hippursäure .	g	0,5	1,0	2,5	2,0	2,0
3. Kultut (19 Tage). Erntegewicht . . .	g	0,035	0,058	0,058	0,000	0,000
Volum der Kulturflüssigkeit	ccm	35,0	34,0	35,0	30,0	29,0
Ungelöste Hippursäure nach der Kultur geblieben		wenig	wenig	viel	viel	viel
Zusatz nach der Kultur: a) Zucker . . .	g	—	—	—	—	—
b) Hippursäure .	g	0,5	1,0	0,5	—	—
Auf dem Wasserbade abgedampft bis . .	ccm	—	—	—	trocken	5
Darauf gebracht auf	ccm	—	—	—	30,0	29,0
4. Kultur (19 Tage). Erntegewicht . . .	g	0,040	0,087	0,064	0,295	0,000
Volum der Kulturflüssigkeit	ccm	27,0	26,0	28,0	24,0	26,0
Reaktion mit Lackmus		sauer	sauer	sauer	sauer	sauer

1) Bei einem Gehalt an Hippursäure von 1 % ist die Lösung schon gesättigt; alle unsere Kulturen wurden also mit gesättigten Lösungen von Hippursäure angestellt, und verschieden war nur das Quantum der ungelösten, kristallinischen Hippursäure.

2) Das Mycelium enthielt die Kriställchen.

Vers. XIV.

Aspergillus niger, *Pencillium glaucum* und *P. griseum* mit „Pepton" als einziger C- und N-Quelle. Vol. = 50 ccm; Temp. = 22—23° C; in den ersten Kulturen fand ein Zusatz von 0,1 % Zucker statt.

Pilzart	*Aspergillus niger*			*Penicill. glaucum*			*Penicill. griseum*		
Peptongehalt . %	2,5	5	10	2,5	5	10	2,5	5	10
1. Kult. (18 Tage) Erntegewicht . . . . g	*0,195*	*0,305*	*0,335*	*0,365*	*0,380*	*0,355*	*0,212*	*0,141*	*0,134*
Vol. d. Kulturflüssigk. ccm	85,0	87,0	88,0	89,0	88,0	89,5	89,5	89,0	89,0
Reaktion mit Lackmus .	sauer	sauer	sauer	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.
Kriställchen von Ammonoxalat ausgeschied. . .	keine	keine	keine	viel	viel	viel	keine	keine	keine
Zusatz von Pepton . g	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2. Kult. (20 Tage) Erntegewicht . . . . g	*0,330*	*0,660*	*0,945*	*0,105*	*0,195*	*0,285*	*0,213*	*0,295*	*0,550*
Vol. d. Kulturflüssigk. ccm	73,0	69,0	69,0	75,0	75,5	77,0	76,5	76,0	74,0
Reaktion mit Lackmus .	sauer schwach	sauer schwach	sauer schwach	alkal.	alkal.	alkal.	alkal. stark	alkal. stark	alkal. stark
Zusatz von Pepton . g	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3. Kult. (20 Tage) Erntegewicht . . . . g	*0,140*	*0,107*	*0,405*	*0,098*	*0,065*	*0,089*	*0,155*	**0,000**	**0,000**
Vol. d. Kulturflüssigk. ccm	59,0	54,0	56,0	50,0	58,5	65,0	68,0	67,5	65,5
Reaktion mit Lackmus .	alkal. schwach	alkal. schwach	alkal. schwach	alkal. stark	alkal. stark	alkal. stark	alkal.	alkal.	alkal.
Zusatz von Pepton . g	1	1	1	—	—	—	—	—	—
4. Kult. (21 Tage) Erntegewicht . . . . g	*0,105*	*0,054*	*0,080*	**0,000**	**0,000**	**0,000**	**0,000**	**0,000**	**0,000**
Vol. d. Kulturflüssigk. ccm	56,5	53,0	54,5	58,0	66,5	63,0	65,5	65,5	61,5
Reaktion mit Lackmus .	alkal.	alkal.	alkal.	alkal. stark	alkal. stark	alkal. stark	alkal.	alkal.	alkal. schwach
NH_3 in der Kolbenatmosphäre	mäßig	viel	mäßig	sehr viel	sehr viel	sehr viel	mäßig	mäßig	Spuren
Zusatz: a) Pepton . . g	1	1	1	—	—	—	—	—	—
b) KH_2PO_4 . g	—	—	—	1	1	1	1	1	1
5. Kult. (20 Tage) Erntegewicht . . . . g	**0,000**	**0,000**	**0,000**	*0,198*	*0,115*	*0,142*	*0,198*	*0,143*	*0,159*
Vol. d. Kulturflüssigk. ccm	55,0	52,0	53,0	57,0	64,0	60,5	60,0	60,0	58,5
Reaktion mit Lackmus .	alkal.	alkal.	alkal.	alkal. stark	alkal. stark	alkal. stark	neutr.	alkal. schwach	neutr.
NH_3 in der Kolbenatmosphäre	?	?	?	sehr viel	sehr viel	sehr viel	mäßig	viel	Spuren
Zusatz von KH_2PO_4 . . g	1	1	1	beendet	beendet	beendet	beendet	beendet	beendet
6. Kult. (21 Tage) Erntegewicht	0,212	0,145	0,225	—	—	—	—	—	—
Grenzerntegewicht . . .	0,770	1,126	1,765	0,568	0,640	0,729	0,580	0,436	0,684

Vers. XXV—XXVI.

Aspergillus niger, *Penicillium glaucum* und *Mucor stolonifer* mit Chinasäure und Arbutin als C-Quelle; NH_4NO_3 1%; Vol. = 50 ccm; Temp. = 22—23° C.

C-Quelle	Chinasäure (frei)				Arbutin					
Pilzart	*Aspergillus niger*				*Aspergillus niger*				*Penic. glauc.*	*Muc. stol.*
Gehalt an C-Quelle %	1	3	10	20	0,5	1	3	10	3	3
1. Kult. (16 Tage) Erntegewicht . . . . g	*0,105*	*0,273*	*0,610*	*1,700*	*0,064*	*0,123*	*0,358*	*0,085*	*0,043*	*0,055*
Volum der Kulturflüssigkeit . . . . . ccm	40,0	37,0	32,5	30,0	44,5	42,5	40,0	45,5	46,0	43,0
Zusatz von C-Quelle . g	2	2	2	5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
2. Kult. (16 Tage) Erntegewicht . . . . g	*0,077*	*0,085*	*0,188*	*0,810*	*0,042*	*0,101*	*0,130*	**0,000**	**0,000**	**0,000**
Volum der Kulturflüssigkeit . . . . . ccm	40,0	37,0	30,0	28,0	?	?	?	?	?	?
Zusatz von:										
a) C-Quelle . . . g	2	2	2	5	0,5	0,5	0,5	—	—	—
b) Marmorpulver . g	—	—	—	—	—	—	—	1	1	1
3. Kult. (15 Tage) Erntegewicht . . . . g	*0,165*	*0,207*	*0,185*	*0,725*	*0,057*	*0,057*	*0,060*	*0,000*	*0,000*	*0,000*
Volum der Kulturflüssigkeit . . . . . ccm	33,0	30,0	25,0	25,0	?	?	?	?	?	?
Zusatz von C-Quelle . g	2	2	2	verloren	0,5	0,5	0,5			
4. Kult. (18 Tage) Erntegewicht . . . . g	*0,220*	*0,355*	*0,305*		*0,090*	*0,095*	*0,095*			
Volum der Kulturflüssigkeit . . . . . ccm	28,0	25,5	17,0		?	?	?			
Zusatz von C-Quelle . g	2	2	2		0,5	0,5	0,5			
5. Kult. (16 Tage) Erntegewicht . . . . g	*0,134*	*0,180*	*0,290*		*0,145*	*0,022*	*0,035*			
Volum der Kulturflüssigkeit . . . . . ccm	20,0	15,5	5,5		?	?	?			
Zusatz von C-Quelle . g	2	2	2		0,5	0,5	0,5			
6. Kult. (16 Tage) Erntegewicht . . . . g	*0,280*	*0,238*	*0,245*		*0,057*	*0,000*	*0,072*			
Volum der Kulturflüssigkeit . . . . . ccm	14,0	8,5	3,0		15,0	13,0	11,5			
Reaktion mit Lakmus . .	sauer	sauer	sauer		sauer schwach	sauer schwach	sauer schwach			
Zusatz von:										
a) C-Quelle . . . g	beendet	beendet	beendet		0,5	—	0,5			
b) Marmorpulver . g					—	1	—			
7. Kult. (94 Tage) Erntegewicht . . . . g					0,038	**0,000**	0,037			
Gesamtgewichte	0,971	1,338	1,853	3,235	0,493	0,398	0,787	0,085	0,043	0,055

Vers. XVII.

Aspergillus niger mit Phloridzin, Quercitrin und Glycyrrhizin als C-Quelle; NH_4NO_3 1%; Vol. = 50 ccm; Temp. = 25—26° C.

Glykosid	Phloridzin			Quercitrin			Glycyrrhizin	
Gehalt an Glykosid %	0,5	1,0	3,0	0,5	1,0	3,0	0,5	1,0
1. Kultur (20 Tage) Erntegewicht . . . . . g	0,033	0,075	0,152	0,025	0,025	0,035	+	+
Zusatz von Glykosid . . g	0,25	0,25	0,25	—	—	—	—	—
2. Kultur (20 Tage) Erntegewicht . . . . . g	0,030	0,035	0,038	0,021	0,019	0,023	+	+
Zusatz von Glykosid . . g	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	—	—
3. Kultur (25 Tage) Erntegewicht . . . . . g	0,037	0,032	0,052	0,021	0,030	0,019	+	+
Zusatz von Glykosid . . g	0,25	0,25	0,25	beendet	beendet	beendet	beendet	beendet
4. Kultur (22 Tage) Erntegewicht . . . . . g	0,026	0,030	0,035	—	—	—	—	—

Vers. XVIII.

Aspergillus niger, Penicillium glaucum, P. griseum, Mucor stolonifer und *Aspergillus flavus* mit Salicin als C-Quelle; NH_4NO_3 1%; Vol. = 50 ccm; Temp. = 22—23° C.

Pilzart	*Aspergill. niger*			*Penicill. glaucum*	*Penicill. griseum*	*Asperg. flavus*	*Mucor stolon.*
Gehalt an Glykosid %	0,5	1,0	3,0	1,0	1,0	1,0	1,0
1. Kultur (16 Tage) Erntegewicht . . g	0,005	0,017	0,028	0,050	0,040	0,002	0,044
Zusatz von Salicin . . . . g	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
2. Kultur (20 Tage) Erntegewicht . . g	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Zusatz von Zucker . . . . g	1	1	1	1	1	1	1
3. Kultur (16 Tage) Erntegewicht . . g	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Volum der Kulturflüssigkeit . . . ccm	38,0	38,5	38,0	—	—	—	—
Pro „Volum" $\frac{N}{1}$ NaOH-Lös. verbraucht:							
a) Methyl-Orange } als Indic. . . .	0,1	0,15	0,35	—	—	—	—
b) Methyl-Violett } als Indic. . . .	0,0	0,05	0,10	—	—	—	—
Zusatz von Marmorpulver . . . . . . g	—	—	—	1	1	1	1
4. Kultur (15 Tage) Entwicklung . . .	—	—	—	—	—	—	—
Saligenin-Nachweis (durch Eisenchlorid) . .	viel	viel	viel	viel	viel	kein	viel

Vers. XIX.

Aspergillus niger, *A. flavus*, *Penicillium glaucum*, *Pen. griseum*, *Mucor stolonifer*, *Saccharomyces cerevisiae* mit Helicin als C-Quelle. NH_4NO_3 1%; Vol. = 50 ccm; Temp. = 22—23° C.

Pilzart	*Aspergillus niger*						*Penicill. glaucum*			*Pen. gris.*	*Asp. flav.*	*Muc. stol.*	*Sacch. cerev.*
Gehalt an Salicin %	0,5		1,0		3,0		0,3	0,6	1,0	0,3	0,3	0,3	0,3
Entwicklung des Pilzes nach 10 Tagen	+	+	++	++	+++	+++	+	+	—	+	+	+	+
Erntegewicht nach 15 Tagen g	0,075	0,045	0,087	0,122	0,245	0,225	?	?		?	?	?	?
Salicylaldehyd-Nachweis (Geruch und Eisenchlorid)	kein	kein	kein	kein	kein	kein	viel	viel	Spuren	viel	viel	viel	Spuren
Zusatz: a) Helicin g	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	—	—	—	—	—	—	—
b) Zucker g	—	—	—		—	—	1	1	—	1	1	1	—
	wurde nicht sterilisiert; nach 8 Stdn. überall starker Geruch nach Salicylaldehyd (auch mit Fe_2Cl_6 nachgewiesen) und später keine Pilzentwicklung.						überall keine Pilzentwicklung (nach der Sterilisierung bei 100°).						

Vers. XX.

Aspergillus niger, *Penicillium glaucum* und *P. griseum* mit weinsaurem Ammon als C- und N-Quelle.

Pilzart	*Aspergillus niger*								*Penicillium griseum*				*Penic. glauc.*	
Temperatur	20° C.		25° C.			32° C.			20° C.		30° C.		20° C.	30° C.
No. der Kolben	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Gehalt an weinsaur. Ammon %	1	5	1	3	10	1	5	5	5	1	5	1	1	1
Volum d. Kulturflüssigkeit ccm	100	100	50	50	50	100	100	100	50	50	50	50	50	50
1. Kultur (16 Tage) Erntegewicht g	0,133	0,055	0,0205	0,010	0,012	0,055	0,030	0,030	0,000	0,000	0,015	0,002	0,052	0,025
Reaktion mit Lackmus	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	neutr.	sauer	sauer	sauer	sauer	alkal.	alkal.
NH_3 in der Kolbenatmosphäre	Spuren	viel	?	?	?	Spuren	kein	Spuren	kein	kein	kein	kein	sehr viel (Geruch)	sehr viel (Geruch)
2. Kultur (16 Tage) Erntegewicht g	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Reaktion mit Lackmus	alkal.	alkal.	?	?	?	alkal.	alkal.	neutr.	sauer	sauer	neutr.	sauer	alkal.	alkal.
NH_3 in der Kolbenatmosphäre	viel	viel	?	?	?	viel	viel	Spuren	—	—	—	—	sehr viel	sehr viel
Zusatz von KH_2PO_4	1	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	1	1
3. Kultur (15 Tage) Erntegewicht g	0,052	—	—	—	—	—	0,036	0,022	—	—	—	—	0,024	0,032

Vers. XXI.

Aspergillus niger und *Penicillium glaucum* mit 3% weinsaurem Kali als C-Quelle und Ammoniumnitrat resp. Ammoniumoxalat als N-Quelle; Vol. = 50 ccm.

Temperatur	20° C.				32° C.	
Pilzart	*Penicill. glauc.*		*Asperg. niger*		*Asperg. niger*	
No. der Kolben	1	2	3	4	5	6
N-Quelle (überall 1%)	NH_4NO_3	$(NH_4)_2C_2O_4$	NH_4NO_3	$(NH_4)_2C_2O_4$	NH_4NO_3	$(NH_4)_2C_2O_4$
1. Kult. (16 Tage). Erntegewicht . . . . g	0,038	0,040	0,065	0,048	0,080	0,055
Farbe d. Kulturflüssigkeit	rosa	rosa	gelb	gelb	farblos	farblos
Reaktion auf Lackmus .	alkal. (stark)	alkal. (stark)	alkal.	alkal.	alkal.	alkal.
NH_3 in der Kolbenatmosphäre	sehr viel	sehr viel	wenig	viel	mäßig	viel
2. Kult. (16 Tage). Erntegewicht . . . . g	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Zusatz von Zucker . g	2	2	—	—	4	4
3. Kult. (10 Tage). Erntegewicht . . . . g	0,000	0,000	—	—	0,946	1,028
Zusatz von KH_2PO_4 . g	1	1	1	1	—	—
4. Kult. (14 Tage). Erntegewicht . . . . g	0,385	0,296	0,094	0,057	—	—

Einige Erklärungen zu den Tabellen Vers. XXII—XXVI.

Diese Versuche unterscheiden sich von allen übrigen unserer Versuche dadurch, daß in denselben nicht nur die physikalischen Kulturbedingungen (Temperatur usw.), sondern auch einige der wichtigsten[1]) Ernährungsbedingungen, wie der Zuckergehalt und das Volum der Kulturflüssigkeit (also Konzentration des Zuckers), von Kultur zu Kultur fast vollständig konstant[2]) gehalten wurden.

Das Volum war in allen Kulturen 100 ccm, und nach jeder Kultur wurde es durch einen entsprechenden Wasserzusatz wieder auf 100 ccm gebracht.

Die Zuckerbestimmung fand durch Polarisation[3]) mit dem

1) Näheres siehe p. 33—38.

2) Siehe p. 35—38.

3) Siehe p. 34—38. Die Länge (l) des Röhrchens wurde je nach der Durchsichtigkeit der Kulturflüssigkeit gleich 1 oder 2 gewählt. In den Tabellen aber ist die Drehung fast überall für l = 2 angeführt. Um von den Drehungszahlen zu den Zuckerprozenten zu kommen, muß man sie mit dem Koeffizienten 0,95 (bei l = 2), resp.

Halbschattenapparat statt, worauf nach jeder Kultur der Zuckergehalt durch einen entsprechenden Zusatz von Zucker wieder auf seine anfängliche Stärke gebracht wurde. Die Zeile „Zuckerverbrauch" zeigt zugleich, wieviel Gramm Zucker in jedem Fall zugesetzt worden war. Für die Kulturen benutzte ich Traubenzucker und zwar in Konzentrationen von 5, 10, 15, 20, 25 und 30%; da die Konzentration von 20% sich als die günstigste erwiesen hatte, so wurden in einigen Versuchen nur mit dieser Konzentration Kulturen angestellt.

Als anfängliche Konzentration der N-Quelle wurde immer eine solche angenommen, die für jede der betreffenden N-Verbindungen die 1% Chlorammon gleiche Quantität Stickstoff (261 mg) enthält; nach jeder Kultur fand ein Zusatz eines gleichen Quantums der N-Quelle statt.

Von den N-Verbindungen benutzte ich hier weinsaures, oxalsaures, salzsaures und salpetersaures Ammon, dann Pepton und Asparagin.

Außerdem wurde jeder neuen Kultur noch ein Zusatz von 5 ccm der Lösung A, also 0,25 g KH_2PO_4, 0,125 g $MgSO_4$ und 0,025 g KCl, zugegeben.

Die Kulturdauer war gewöhnlich sechs Tage; bei der gewählten Temperatur (25—26° C.) und den anderen Kulturbedingungen ist nach dieser Zeit das Mycel fast vollständig entwickelt und normal ist schon die Konidienbildung beendigt.

In einigen Fällen wurde die Kulturdauer bis zu 20 Tagen verlängert. Die Versuche XXII und XXIII, XXIV und XXV wurden streng parallel (also gleichzeitig usw.) angestellt. Darum sind ihre Resultate untereinander noch vergleichbarer als mit den anderen.

Nach der Beendigung wurden bei diesen Versuchen in den meisten Kulturen einige analytische Bestimmungen der Kulturflüssigkeit vorgenommen. Die sämtlichen Kulturflüssigkeiten wurden auf 100 ccm gebracht, und in dieser Lösung die Parallelbestimmungen des Dextrosegehaltes durch Polarisation und Titrieren mit der Fehlingschen Lösung nach Soxhlet[1]) ausgeführt.

1,9 (bei l = 1) multiplizieren; durch weitere Multiplizierung des Produktes mit 0,01 des entsprechenden Volums der Kulturflüssigkeit erhalten wir den in diesem Volumen vorhandenen Zuckergehalt in g.

1) Siehe König, l. c. 227.

Dann wurde die Reaktion der Kulturflüssigkeit gegen Lackmus festgestellt[1]) und noch der Gehalt der Oxalsäure, durch Fällung als $CaC_2O_4 \cdot H_2O$ [2]), bestimmt.

Vers. XXII.

Aspergillus niger mit weinsaurem Ammon als N-Quelle (1,72%). Vol. = 100 ccm; Temp. = 25—26° C.; Kulturdauer 6 Tage.

Traubenzuckergehalt %	5	10	15	20	25	30
1. **Kultur** (6 Tage). Erntegewichte g	*0,747*	*1,207*	*1,552*	*1,345*	*1,315*	*1,520*
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . . . . ccm	87,5	86,0	83,0	87,0	87,5	87,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	1,38	2,80	4,58	8,88	13,75	18,95
Mit der Korrektion an 1,72% weinsaures Ammon . . . . °	0,50	1,92	3,70	8,00	12,87	18,07
Zuckergehalt . . . . g	0,42	1,56	2,91	6,61	10,70	14,94
Zuckerverbrauch . . . . g	4,58	8,44	12,09	13,39	14,30	15,06
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	16,3	14,3	12,8	10,0	0,9	10,1
2. **Kultur** (6 Tage). Erntegewichte g	*1,055*	*1,905*	*4,180*	*4,465*	*6,300*	*4,880*
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . . . . ccm	77,0	67,0	66,0	67,5	50,5	62,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	− 0,25	0,00	0,50	2,95	2,50	16,00
Zuckergehalt . . . . g	0,00	0,00	0,31	1,89	1,20	9,42
Zuckerverbrauch . . . . g	5,00	10,00	14,69	18,11	23,80	20,58
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	21,1	19,0	28,4	24,7	26,5	23,7
3. **Kultur** (6 Tage). Erntegewichte g	*1,565*	*2,680*	*3,650*	*3,730*	*3,870*	*4,015*
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . . . . ccm	73,0	64,0	69,5	76,0	72,5	72,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	0,00	0,00	2,00	10,00	9,00	15,00
Zuckergehalt . . . . g	0,00	0,00	1,32	7,22	6,20	10,26
Zuckerverbrauch . . . . g	5,00	10,00	13,68	12,78	18,80	19,74
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	31,3	26,8	26,7	29,2	20,6	20,3

1) Es wurde auch versucht, die Aziditätsbestimmungen durch Titrieren mit NaOH-Lösung mit Methylorange als Indikator auszuführen. Leider aber war das wegen der dunklen Lösungsfarbe nur in sehr wenigen Fällen möglich, und da diese vereinzelten Zahlen kein Interesse bieten, so habe ich sie in den Tabellen garnicht angegeben.

2) Die Methode siehe bei **Wehmer**, l. c.

(Fortsetzung von Vers. XXII.)

Traubenzuckergehalt %	5	10	15	20	25	30
4. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	*1,392*	*2,805*	*4,617*	*5,760*	*5,383*	*4,630*
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm	80,0	70,5	59,5	65,5	69,5	77,5
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	− 0,50	0,00	−0,125	2,50	10,00	20,00
Zuckergehalt . . . . g	0,00	0,00	0,00	1,56	6,60	14,72
Zuckerverbrauch . . . . g	5,00	10,00	15,00	18,44	18,40	15,28
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	27,8	28,0	30,8	31,2	29,3	30,3
5. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	*1,405*	*2,535*	*3,310*	*3,875*	*4,750*	*5,600*
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm	81,0	76,0	77,0	78,5	75,0	77,5
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	0,00	0,00	− 0,25	7,00	10,00	16,50
Zuckergehalt . . . . g	0,00	0,00	0,00	5,22	7,13	12,15
Zuckerverbrauch . . . . g	5,00	10,00	15,00	14,78	17,87	17,85
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	28,1	25,3	22,1	26,2	26,6	31,3
6. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	*1,200*	*2,575*	*3,390*	*3,345*	*4,220*	*3,970*
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm	85,0	78,5	81,0	88,0	81,0	86,5
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	0,00	0,00	4,00	10,50	13,00	14,00
Zuckergehalt . . . . g	0,00	0,00	3,08	8,77	10,00	11,50
Zuckerverbrauch . . . . g	5,00	10,00	11,92	11,23	15,00	18,50
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	24,0	25,7	28,4	29,8	28,1	21,5
7. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	*1,520*	*2,738*	*3,690*	*4,792*	*3,970*	*5,445*
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm	83,0	75,0	78,0	75,0	80,0	74,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	0,00	− 0,15	1,50	2,50	10,50	10,00
Zuckergehalt . . . . g	0,00	0,00	1,11	1,78	7,98	7,03
Zuckerverbrauch . . . . g	5,00	10,00	13,89	18,22	17,02	22,97
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	30,4	27,4	26,6	26,3	23,3	23,7
8. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	*1,325*	*2,645*	*3,625*	*4,415*	*3,910*	*3,960*
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm	75,0	78,0	78,0	74,0	84,0	82,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	0,00 ?	− 0,25	1,50	5,50	12,30	21,80
Zuckergehalt . . . . g	0,00 ?	0,00	1,11	3,87	9,82	16,98
Zuckerverbrauch . . . . g	5,00 ?	10,00	13,89	16,13	15,18	13,02
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	26,5	26,5	26,1	27,4	25,7	30,4

(Fortsetzung von Vers. XXII.)

Traubenzuckergehalt %	5	10	15	20	25	30
Die Gesamterntegewichte aller 8 Kult. g	*10.21*	*19.09*	*28.01*	*31.73*	*33.72*	*34.32*
D. Gesamtzuckerverbrauch aller 8 Kult. g	39,6	78,4	110,2	123,1	140,4	143,0
Die mittl. Erntegewichte aller 8 Kult. g	1,276	2,386	3.501	3,966	4,215	4,290
Der mittl. Zuckerverbrauch aller 8 Kult. g	4,95	9,800	13,775	15,387	17,547	17,874
Mittlere Trockensubstanzbildung aus 100 g verbraucht. Zuckers . . . g	25,8	24,3	25,4	25,8	24,0	24,0

Analyse der Kulturflüssigkeiten des Versuches XXII nach dessen Schluß.

Für die Kultur auf der Zuckerkonzentration %	5	10	15	20	25	30
Letztes Volumen . . . . ccm	75,0	78,0	78,0	74,0	84,0	82,0
Volum gebracht auf . . . . . ccm	100	100	100	100	100	100
Beobachtete Drehung (l = 2) . . °	0,00	0,00	1,20	4,00	10,00	18,00
Zuckergehalt in 100 ccm . . . . g	0,00	0,00	1,14	3,80	9,50	17,10
Für die Zuckerbestimmung nach Soxhlet genommen . . . . ccm	10	10	10	10	10	10
Verdünnt bis . . . . ccm	10	10	10	40	150	200
Für 10 ccm der Fehlingschen Lösung (= 0,0475 g Glykose) verbraucht ccm	—	—	2,50	7,75	7,50	6,10
Zuckergehalt in 100 ccm . . . . g	0,000	0,000	1,900	2,453	9,500	15,570
Differenz zwischen Polarisierung und Titrierung . . . . g	0,000	0,000	+ 0,760	− 1,347	0,000	− 1,530
Reaktion d. Kulturflüssigkeit auf Lackmus	neutral	sauer	sauer	sauer	sauer	sauer
Zur $C_2H_2O_4$- (als $CaC_2O_4 \cdot H_2O$) Bestimmung genommen . . . . . ccm	25	25	25	25	25	25
$CaC_2O_4 \cdot H_2O$ gefunden . . . . . g	0,795	0,592	0,213	0,000	0,000	0,000

Vers. XXIII.

Aspergillus niger mit Chlorammon als N-Quelle (1 %). Volum = 100 ccm; Temp. = 25—26° C.; Kulturdauer 6 resp. 20 Tage.

Traubenzuckergehalt %	5	10	15	20	25	30
1. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	*0,795*	*1,122*	*1,252*	*1,317*	*1,215*	*1,305*
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm	84,0	83,0	83,5	84,5	85,5	86,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	2,40	6,25	11,20	17,25	23,50	28,00
Zuckergehalt . . . . g	1,92	4,93	8,88	13,85	19,09	22,88
Zuckerverbrauch . . . . g	3,08	5,07	6,12	6,15	5,91	7,12
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz ausgebildet . . . . . g	25,8	22,1	20,5	21,4	20,5	18,3

(Fortsetzung von Vers. XXIII.)

Traubenzuckergehalt %	5	10	15	20	25	30
2. Kultur. 6 Tage. Pilzentwicklung	+ [1]	+ [1]	+ [1]	—	—	—
20 Tage. Erntegewichte g	*0,940*	*0,870*	*2,122*	*1,853*	*2,005*	*1,120*
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm	76,5	82,5	75,0	79,0	79,0	84,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	1,00	6,95	5,50	10,90	14,00	26,50
Zuckergehalt . . . . g	0,73	5,45	3,92	8,18	10,51	21,14
Zuckerverbrauch . . . . g	4,27	4,55	11,08	11,82	14,49	8,86
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . . . g	22,0	19,1	19,1	15,7	13,8	12,6
3. Kultur. 6 Tage. Pilzentwicklung	+ [1]	+ [1]	—	—	—	—
10 „ „	+ [1]	+ [1]	+ [1]	—	—	+ [1]
20 „ Erntegewichte g	*1,470*	*1,613*	*0,290*	*0,000*	*0,000*	*0,000*
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm	75,0	78,0	78,0	87,0	87,5	88,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	0,00	4,00	17,50	—	—	—
Zuckergehalt . . . . g	0,00	2,96	12,97	20,00	25,00	30,00
Zuckerverbrauch . . . . g	5,00	7,04	2,03	0,00	0,00	0,00
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . . . g	29,4	22,9	14,3	—	—	—
Zusatz von Marmorpulver . . . . g	—	—	—	5	5	5
4. Kultur. 6 Tage. Pilzentwicklung	—	—	—	+ + +	+ + +	+ + +
6 „ Erntegewichte g	—	—	—	3,800	4,930	5,230
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm				61,0	57,0	65,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	Nach 20 Tagen noch gar keine Entwicklung			6,50	9,00	14,00
Zuckergehalt . . . . g				3,78	4,87	8,65
Zuckerverbrauch . . . . g				16,22	20,13	21,35
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . . . g				23,4	24,5	24,5
Zusatz von Marmorpulver . . . . g	5	5	5	5	5	5
5. Kultur. 6 Tage. Erntegewichte g	verloren	2,630	5,370	3,672	5,410	5,102
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm		81,0	65,0	68,0	61,0	63,5
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °		2,50	1,50	10,00	9,00	17,50
Zuckergehalt . . . . g		1,92	0,93	6,46	5,21	10,55
Zuckerverbrauch . . . . g		8,08	14,07	13,54	19,79	19,45
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . . . g		32,5	38,1	27,1	27,3	26,2
Zusatz von Marmorpulver . . . . g		5	5	5	5	5

1) Ganz unwägbar; oft nur eine Sporenkeimung.

(Fortsetzung von Vers. XXIII.)

Traubenzuckergehalt %	5	10	15	20	25	30
6. Kultur. 6 Tage. Erntegewichte g		3,455	3,982	6,585	5,962	3,490
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm		67,0	69,0	52,5	57,0	76,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °		0,00	0,00	0,00	9,00	25,00
Zuckergehalt . . . . g		0,00	0,00	0,00	4,87	18,05
Zuckerverbrauch . . . . g		10,00	15,00	20,00	20,13	11,95
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . . . g		34,5	26,5	32,9	29,6	29,2
Zusatz von Marmorpulver . . . . g		5	5	5	5	5
7. Kultur. 6 Tage Erntegewichte g		3,365	4,340	3,825	4,400	5,395
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult. ccm		69,5	66,0	77,0	58,5	68,0
Zuckergehalt (siehe die analytischen Angaben) . . . . g		0,00	0,00	8,65	4,75	10,45
Zuckerverbrauch . . . . g		10,00	15,00	11,35	20,25	19,55
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . . . g		33,6	28,9	33,7	21,7	27,6
Kulturen ohne Marmorzusatz: Gesamterntegewichte . g	3,205	3,605	3,664	3,170	3,220	2,425
Kulturen ohne Marmorzusatz: Gesamtzuckerverbrauch g	12,36	16,68	19,23	17,97	20,40	15,98
Kulturen ohne Marmorzusatz: Mttl. Trockensubstanzbild. aus 100 g verbr. Zuck. g	25,9	21,6	19,0	17,6	15,7	15,2
Kulturen mit Marmorzusatz: Gesamterntegewichte . g		9,450	13,692	17,882	20,702	19,217
Kulturen mit Marmorzusatz: Gesamtzuckerverbrauch g		28,08	44,07	61,11	80,30	72,30
Kulturen mit Marmorzusatz: Mttl. Trockensubstanzbild. aus 100 g verbr. Zuck. g		33,6	31,1	29,3	25,8	26,6

Analyse der Kulturflüssigkeiten des Vers. XXIII nach dessen Schluß.

	10	15	20	25	30
Das letzte Volum gebracht auf . . . . ccm	100	100	100	100	100
Beobachtete Drehung (l = 2) . . . . . . °	0,00	− 0,15	4,55	2,50	5,50
Zuckergehalt in 100 ccm . . . . g	0,000	0,000	8,645	4,750	10,450
Für die Zuckerbestimmung nach Soxhlet genommen . . . . ccm	10	10	10	10	10
Verdünnt bis . . . . ccm	10	10	100	50	100
Für 10 ccm Fehlingscher Lösung (= 0,0475 Glykose) verbraucht . . . . ccm	—	—	5,50	5,25	5,10
Zuckergehalt in 100 ccm . . . . g	0,000	Spuren	8,636	4,523	9,310
Differenz zwischen Polarisierung u. Titrierung g	0,000	0,000	−0,009	−0,227	−1,140
Reaktion der Kulturflüssigkeit auf Lackmus .	sauer	sauer	sauer	sauer	sauer
Zur $C_2H_2O_4$- (als $CaC_2O_4 \cdot H_2O$) Bestimmung genommen . . . . ccm	25	25	25	25	25
$CaC_2O_4 \cdot H_2O$ gefunden . . . . g	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Vers. XXIV.

Aspergillus niger mit oxalsaurem, weinsaurem, salzsaurem und salpetersaurem Ammon als N-Quelle, mit und ohne Marmorzusatz; Vol. = 100 ccm; Temp. = 25—26° C.; Kulturdauer sechs Tage.

N-Quelle	1,196% oxalsaures Ammon		1,72% weinsaures Ammon		1% Chlorammon	1,492% Ammonnitrat
Traubenzuckergehalt %	20	20	20	20	20	20
Zusatz von Marmorpulver g	5	—	5	—	5	5
1. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	*2,815*	*2,590*	*1,400*	*2,335*	*0,215*	*0,235*
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . . . . ccm	73,0	77,0	86,0	82,0	89,0	89,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung °	?	11,00	?	8,00	17,00	17,50
Zuckergehalt . . . . g	?	8,05	?	6,23	14,33	14.80
Zuckerverbrauch . . . . g	?	11,95	?	13,77	5,67	5,20
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	?	21,70	?	16,96	3,79	4,52
Zusatz zu d. Kulturflüssigk.:						
a) Zucker . . . . g	10,00	11,95	10,00	13,77	5,67	5,20
b) Marmorpulver . . . . g	5	—	5	—	5	5
2. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	*4,367*	*3,285*	*5,145*	*3,368*	*1,220*	*2,618*
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . . . . ccm	62,5	75,0	68,0	77,0	88,5	82,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung °	?	9,60	?	9,50	14,5	13,6
Zuckergehalt . . . . g	?	6,84	?	6,95	12,19	10,59
Zuckerverbrauch . . . . g	?	13,16	?	13,05	7,81	9,41
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	?	25,0	?	25,8	15,6	27,8
Zusatz zu der Kulturflüssigkeit:						
a) Zucker . . . . g	10,00	13,16	10,00	13,05	7,81	9,41
b) Marmorpulver . . . . g	5	—	5	—	5	5
3. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	*3,950*	*5,370*	*2,880*	*4,490*	*4,240*	*2,425*
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . . . . ccm	55,0	67,0	81,0	75,0	72,5	71,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung °	?	3,50	?	7,0	8,0	15,0
Zuckergehalt . . . . g	?	2,23	?	4,99	5,51	10,12
Zuckerverbrauch . . . . g	?	17,77	?	15,01	14,49	9,88
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	?	30,2	?	29,9	29,3	24,5
Zusatz zu der Kulturflüssigkeit:						
a) Zucker . . . . g	10,00	17,77	10,00	15,01	14,49	9,88
b) Marmorpulver . . . . g	5	—	5	—	5	5

(Fortsetzung von Vers. XXIV.)

N-Quelle	1,196 % oxalsaures Ammon		1,72 % weinsaures Ammon		1 % Chlor-ammon	1,492 % Ammon-nitrat
Traubenzuckergehalt %	20	20	20	20	20	20
4. Kultur. Erntegewichte . . . g	*0,000*	*4,365*	*4,630*	*4,862*	*3,615*	*2,575*
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . . . . ccm	95,0	65,0	70,0	67,0	65,0	70,0
Zuckergehalt (siehe die analytischen Angaben) . . . . g	?	2,75	0,00	2,18	5,70	7,88
Zuckerverbrauch . . . . g	?	17,25	?	17,82	14,30	12,12
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz ausgebildet . . . . . . g	?	25,3	?	27,3	25,3	21,3
Zusatz zu der Kulturflüssigkeit: Phosphorsäure	bis zu saurer Reakt.	beendet	beendet	beendet	beendet	beendet
5. Kultur. Erntegewichte . . . g	0,000	—	—	—	—	—
Gesamterntegewicht aller vier Kultur. g	11,132	15,610	14,055	15,055	9,290	7,853
Gesamt-Zuckerverbrauch aller vier Kulturen . . . . g	?	60,13	50,00	59,65	42,27	36,61
Mittlere Erntegewichte aus allen vier Kulturen . . . . g	3,711	3,902	3,514	3,764	2,322	1,963
Mittlerer Zuckerverbrauch aus allen vier Kulturen . . . . g	?	15,03	12,50	14,91	10,57	9,15
Mittlere Trockensubstanzbildung aus 100 g verbraucht. Zuckers . . . g	?	26,0	28,1	25,2	22,0	21,4

Analyse der Kulturflüssigkeiten nach dem Versuchschluß Vers. XXIV.

Das letzte Volum gebracht auf . ccm	100	100		100	100	100
Beobachtete Drehung . . . . . . °	?	2,90	?	2,30	6,00	8,30
Zuckergehalt in 100 ccm . . . . g	?	2,755	?	2,185	5,700	7,885
Für Zuckerbestimmung nach Soxhlet genommen . . . . ccm	wurde	10	10	10	10	10
Verdünnt bis . . . . ccm	nicht	10	10	10	50	100
Für 10 ccm Fehlingscher Lösung (= 0,0475 Glykose) verbraucht ccm	analysiert	1,65	0,00	4,25	5,00	6,40
Zuckergehalt in 100 ccm . . . . . g		2,879	0,00	1,118	4,750	7,422
Differenz zwischen Polarisierung und Titrierung . . . . g		+0,124	?	−1,067	−0,950	−0,463
Reaktion der Kulturflüssigkeit auf Lackmus		sauer	sauer	sauer	sauer	sauer
In 25 ccm der Kulturflüssigkeit $CaC_2O_4 \cdot H_2O$ gefunden . . . . g		0,124	0,000	0,115	0,000	0,000

Vers. XXV.

Aspergillus niger mit Pepton, Asparagin und weinsaurem Ammon als N-Quelle.
Vol. = 100 ccm; Temp. = 25—26° C.; Kulturdauer sechs Tage.

Art der Kulturgefäße	Erlenm. Kolben				Kristallisierschalen	
N-Quelle	1,75% Pepton		1,23% Asparagin		1,72% weinsaures Ammon	
Traubenzuckergehalt %	20	5	20	5	20	20
Zusatz v. 5 proz. Eisenchloridlös. Tropfen	2	2	2	2	2	kein
1. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	1,610	1,420	1,235	0,760	4,260	3,555
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . . . . ccm	88,0	82,0	86,5	87,0	63,0	67,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	11,00	—0,50	13,50	2,00	4,50	4,50
Zuckergehalt . . . . g	9,20	0,00	11,09	1,65	2,69	2,86
Zuckerverbrauch . . . . g	10,80	5,00	8,91	3,35	17,31	17,14
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	14,9	28,4	13,9	22,7	24,6	20,7
2. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	2,030	1,120	2,740	1,965	4,292	6,730
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . . . . ccm	87,0	83,0	79,0	71,0	63,0	38,5
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	14,00	0,00	12,50	0,00	9,50	3,40
Zuckergehalt . . . . g	11,57	0,00	9,38	0,00	5,68	1,24
Zuckerverbrauch . . . . g	8,43	5,00	10,62	5,00	14,32	18,76
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	24,1	22,4	25,8	39,3	30,0	35,9
3. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	3,055	2,234	3,950	1,300	5,795	6,125
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . . . . g	81,0	76,5	80,5	67,0	38,5	39,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 2) . . . . °	11,60	—0,15	9,75	0,00	0,00	0,00
Zuckergehalt . . . . g	8,93	0,00	7,46	0,00	0,00	0,00
Zuckerverbrauch . . . . g	11,07	5,00	12,54	5,00	20,00	20,00
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	27,6	44,7	31,5	26,0	29,0	36,25
4. Kultur (6 Tage). Erntegewichte g	2,960	2,121	3,750	1,462	4,220	5,500
Volum der Kulturflüssigkeit nach der Kultur . . . . ccm	81,0	73,5	77,5	67,0	52,0	43,5
Zuckergehalt (siehe analyt. Angaben) g	9,88	0,00	7,88	0,00	0,00	0,00
Zuckerverbrauch . . . . g	10,12	5,00	12,12	5,00	20,00	20,00
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet . . . . g	29,2	42,4	30,9	29,2	21,1	27,5

(Fortsetzung von Vers. XXV.)

Art der Kulturgefäße	Erlenm. Kolben				Kristallisierschalen	
N-Quelle	1,75 % Pepton		1,23 % Asparagin		1,72 % weinsaures Ammon	
Traubenzuckergehalt %	20	5	20	5	20	20
Zusatz v. 5 proz. Eisenchloridlös. Tropf.	2	2	2	2	2	kein
Gesamterntegewicht aller 4 Kulturen g	9,655	6,895	11,675	5,487	18,567	21,910
Gesamtzuckerverbrauch all. 4 Kultur. g	40,42	20,00	44,19	18,35	71,63	75,90
Mittl. Erntegewichte aus all. 4 Kultur. g	2,414	1,724	2,919	1,372	4,642	5,4475
Mittl. Zuckerverbrauch a. all. 4 Kultur. g	10,105	5,00	11,05	4,59	17,91	18,975
Mittlere Trockensubstanzausbildung aus 100 g verbrauchten Zuckers . . g	23,9	34,5	26,4	29,9	25,9	28,9

Analyse der Kulturflüssigkeiten nach dem Versuchschluß Vers. XXV.

Das letzte Volum gebracht auf . ccm	100	100	100	100	100	100
Beobachtete Drehung (l = 1) . . °	5,20?	?	4,15	0,20	0,00	−0,25
Zuckergehalt in 100 ccm . . . . g	9,880	?	7,885	0,380	0,00	0,00
Für Zuckerbestimmung nach Soxhlet genommen . . . . ccm	10	10	10	10	10	10
Verdünnt bis . . . . ccm	100	20	100	10	10	10
Für 10 ccm Fehlingscher Lösung (= 0,0475 g Glykose) verbraucht ccm	4,30	—	7,40	—	—	—
Zuckergehalt in 100 ccm . . . . g	11,046	0,000	6,419	0,000	0,000	0,000
Differenz zwischen Polarisierung und Titrierung . . . . g	+1,166	?	−1,466	−0,380	0,000	0,000
Reaktion d. Kulturflüssigk. auf Lackmus	sauer	neutr.	sauer	neutr.	schwach alkalisch	sauer
In 25 ccm der Kulturflüssigkeit $CaC_2O_4 \cdot H_2O$ gefunden . . . . . . g	0,000	0,102	0,000	0,158	0,032	Spuren

Vers. XXVI.

Aspergillus niger mit weinsaurem Ammon als N-Quelle; mit und ohne Beibehalten der Zuckerkonzentration. Bedeutung der Kulturdauer. Vol. = 100 ccm; Temp. = 25—26° C.

No. der Kultur	1	2	3	4	5
Traubenzuckergehalt %	20	20	20	20	20
1. Kultur. Erntegewichte . . . . g	2,350	3,165	1,732	1,823	1,843
Kulturdauer . . . . Tage	50	22	6	6	6
Volum d. Kulturflüssigkeit nach d. Kultur ccm	60,0	63,0	85,5	83,5	83,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung . . °	0,00	0,00	11,00	9,00	9,00
Zuckergehalt . . . . g	0,00	0,00	8,93	7,14	7,10
Zuckerverbrauch . . . . g	20,00	20,00	11,07	12,86	12,90
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubst. gebildet . . . . g	11,75	15,8	15,6	14,2	14,3
Zusatz nach der Kultur; von Zucker . . . g	beendet	beendet	11,07 [1]	kein [2]	kein [2]

[1]) Auch Zusatz von weinsaur. Ammon und Salzen.
[2]) Auch kein Zusatz von weinsaur. Ammon und Salzen.

(Fortsetzung von Vers. XXVI.)

Nr. der Kultur		1	2	3	4	5
Traubenzuckergehalt	%	20	20	20	20	20
2. Kultur. Erntegewichte	g			5,255	3,180	3,075
Volum d. Kulturflüssigkeit nach der Kultur	ccm			69,5	69,0	71,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung	°			0,00	0,00	0,00
Zuckergehalt	g			0,00	0,00	0,00
Zuckerverbrauch	g			20,00	7,14	7,10
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet	g		Fortsetz. zu der Kultur Nr. 3: 4. Kultur	26,3	44,5	43,3
Zusatz von Zucker nach der Kultur	g			20,00[1]	kein[2]	kein[2]
3. Kultur. Erntegewichte (6 Tage)	g			3,465	0,110	0,197
Volum d. Kulturflüssigkeit nach d. Kultur	ccm		75,0	80,5	95,0	96,0
Nach der Kultur beobachtete Drehung (l = 1)	°		7,00	3,10	0,00	0,00
Zuckergehalt	g		4,99	4,74	0,00	0,00
Zuckerverbrauch	g		15,01	15,26	?	?
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz gebildet	g		25,4	22,71	?	?
Zusatz von Zucker nach der Kultur	g			15,26[1]	kein[2]	kein[2]
4. Kultur. Erntegewichte (5 Tage)	g			3,815[3]	0,000	0,000
Gesamte Erntegewichte aller Kulturen	g	2,350	3,165	14,267	5,113	5,115
Gesamter Zuckerverbrauch von allen Kulturen	g	20,00	20,00	61,34	20,00	20,00
Mittlere Trockensubstanzausbildung aus 100 g verbraucht. Zuckers	g	11,75	15,8	23,3	25,6	25,6

Vers. XXVII.

Aspergillus niger. Weinsaures Ammon als N-Quelle. Einfluß kleiner Peptonzugaben. N-Bestimmungen in der Kulturflüssigkeit. Vol. = 100 ccm; Temp. = 25—26° C.; Kulturdauer 6 Tage.

Nr. der Kultur		1	2	3	4	5	6
Traubenzuckergehalt	%	20	20	20	20	20	20
Zusatz von Witts Pepton	g	0,000	0,040	0,080	0,160	kein	kein
Erntegewichte (nach 6 Tagen)	g	1,602	1,557	1,605	1,666	1,589	1,500
Vol. d. Kulturflüssigk. nach d. Kult.	ccm	85,0	85,0	84,0	84,5	83,5	84,5
Nach d. Kult. beobacht. Drehung (l=2)	°	—	—	—	—	10,1	9,5
Zuckergehalt	g	—	—	—	—	8,16	7,72
Zuckerverbrauch	g	—	—	—	—	11,84	12,28
Aus 100 g verbraucht. Zuckers Trockensubstanz ausgebildet	g	—	—	—	—	13,4	12,2
Im Gesamtvolum der Kulturflüss. gefund. Gesamt-N	mg	—	—	—	—	150,1	152,0
Im Ges.-Vol. d. Kulturflüss. gefd. NH_3N	mg	—	—	—	—	139,6	142,0
Im Ges.-Vol. d. Kulturflüss. gefd. Differ.	mg	—	—	—	—	10,5	10,0

1) Auch Zusatz von weinsaur. Ammon und Salzen.
2) Auch kein Zusatz von weinsaur. Ammon und Salzen.
3) Fortsetzung in der Kolumne von Kultur Nr. 2.

Analytische Angaben zu den N-Bestimmungen.

		Volum der analysiert. Flüssigkeit ccm	$\frac{N}{10}$ H_2SO_4 genommen ccm	$\frac{N}{10}$ NaOH verbraucht ccm	N gefunden mg
Gesamt-N (nach Kjeldahl): . .	Kolben No. 5	25	77,0	44,9	44,94
	Kolben No. 6	25	77,0	44,5	45,50
NH_3-N (Destillation mit Magnesia):	Kolben No. 5	25	76,0	46,15	41,79
	Kolben No. 6	25	79,0	48,6	42,56